



ANNEE 2002

THESE : 2002 – TOU 3 – 4191

ETUDE DE LA PREVALENCE ET DES FACTEURS DE RISQUE DE LA BABESIOSE SUR LA POPULATION DES CHEVAUX EN CAMARGUE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2002
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Julien, Alexis GUILLOT
Né, le 17 juin 1977 à LYON (Rhône)

Directeur de thèse : Mlle le Docteur Séverine BOULLIER

JURY

PRESIDENT :
M. Jean-Louis FONVIEILLE

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
Mlle Séverine BOULLIER
Mme Frédérique MESSUD-PETIT

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

SOMMAIRE

ETUDE DE LA PREVALENCE ET DES FACTEURS DE RISQUE DE LA BABESIOSE SUR LA POPULATION DES CHEVAUX EN CAMARGUE

Introduction.....	7
Avant propos : la babésiose, un vrai problème économique et sanitaire ; un exemple : les JO d'Atlanta.....	8
1 BASES THÉORIQUES NECESSAIRES À L'ÉTUDE ÉPIDÉMIOLOGIQUE DE LA BABESIOSE EN CAMARGUE	9
1.1 ETIOLOGIE.....	9
1.1.1 <i>Taxinomie des parasites</i>	9
1.1.2 <i>Morphologie des parasites</i>	9
1.1.2.1 <i>Babesia caballi</i>	9
1.1.2.2 <i>Babesia equi</i>	10
1.1.3 <i>Cycles évolutifs des parasites</i>	10
1.1.3.1 Développement chez le cheval.....	10
1.1.3.1.1 <i>Babesia caballi</i>	10
1.1.3.1.2 <i>Babesia equi</i>	10
1.1.3.2 Développement chez la tique vectrice.....	11
1.1.3.2.1 <i>Espèces vectrices</i>	11
1.1.3.3 <i>Déroulement du cycle</i>	11
1.1.3.4 <i>Schémas récapitulatifs</i>	12
1.2 EPIDEMIOLOGIE THÉORIQUE.....	14
1.2.1 <i>Epidémiologie descriptive</i>	14
1.2.1.1 En France	14
1.2.1.2 Sur le vieux continent, de l'Europe à l'Asie.....	14
1.2.1.3 Dans le reste du monde.....	14
1.2.2 <i>Epidémiologie analytique</i>	15
1.2.2.1 Sources de parasites	15
1.2.2.1.1 Sources directes : les tiques	15
1.2.2.1.2 Sources indirectes : les chevaux infectés.....	15
1.2.2.2 Modes d'infection	15
1.2.2.3 Réceptivité	16
1.2.2.3.1 <i>Espèces</i>	16
1.2.2.3.2 <i>Races</i>	16
1.2.2.3.3 <i>Age</i>	16
1.2.2.3.4 <i>Rôle de l'immunité</i>	16
1.2.3 <i>Epidémiologie synthétique</i>	16
1.3 RÉPONSE IMMUNITAIRE DE L'HÔTE.....	17
1.3.1 <i>Immunité de prémunition</i>	17
1.3.2 <i>Nature de l'immunité de prémunition</i>	17
1.3.2.1 <i>Immunité à médiation cellulaire</i>	17
1.3.2.2 <i>Immunité à médiation humorale</i>	18
1.3.3 <i>Cinétique des anticorps</i>	18

1.4	CONSEQUENCES POUR LE CHOIX DU DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL	20
1.4.1	<i>Diagnostic direct</i>	20
1.4.1.1	Etallement et coloration sur lame.....	20
1.4.1.2	Immunofluorescence directe (IFD).....	20
1.4.1.3	Sondes à ADN.....	21
1.4.2	<i>Diagnostic indirect</i>	21
1.4.2.1	Fixation du complément.....	21
1.4.2.2	Précipitation en gélose.....	21
1.4.2.3	Immunofluorescence indirecte.....	22
1.4.2.4	Enzyme-Linked ImmunoSorbant Assay (ELISA)	22
1.4.2.5	WESTERN BLOT	22
2	MATÉRIEL ET MÉTHODE	23
2.1	CHOIX DE L'ÉCHANTILLON DE CHEVAUX	23
2.1.1	<i>Zones géographiques retenues</i>	23
2.1.2	<i>Type de chevaux recherchés</i>	24
2.1.3	<i>Ecuries retenues</i>	25
2.2	RÉALISATION ET COLLECTE DES DONNÉES DES QUESTIONNAIRES.....	26
2.2.1	<i>Conservation de l'anonymat</i>	26
2.2.2	<i>Réalisation des questionnaires</i>	26
2.2.2.1	Questionnaire cheval	27
2.2.2.2	Questionnaire environnement.....	27
2.2.3	<i>Collecte des données et utilisation statistique</i>	28
2.2.3.1	Les questionnaires	28
2.2.3.2	Analyse statistique	28
2.3	RÉALISATION ET TRAITEMENT DES PRÉLÈVEMENTS	29
2.3.1	<i>Choix de la période de prélèvement</i>	29
2.3.2	<i>Traitement des prélèvements depuis la prise de sang jusqu'au laboratoire d'analyse</i>	30
2.3.3	<i>Méthode de dépistage expérimental</i>	30
3	RÉSULTATS	31
3.1	DESCRIPTION DE LA POPULATION DES CHEVAUX EN CAMARGUE	31
3.1.1	<i>Caractérisation des chevaux camarguais</i>	31
3.1.2	<i>Caractérisation des « écuries » camarguaises</i>	34
3.1.3	<i>Caractérisation de l'environnement des « écuries » camarguaises</i>	36
3.2	PRÉVALENCE ET FACTEURS DE RISQUE DE LA BABÉSIOSE EN CAMARGUE	37
3.2.1	<i>Epidémiologie descriptive de la séroprévalence grâce à l'analyse bivariée</i>	37
3.2.1.1	A l'échelle des chevaux.....	38
3.2.1.1.1	Relation positivité/ Activité principale.....	38
3.2.1.1.2	Relation positivité/Caractéristiques physiques et sanitaires	39
3.2.1.1.3	Relation positivité/Caractéristiques de l'habitat, historique	41
3.2.1.2	A l'échelle des écuries.....	44
3.2.1.2.1	Relation positivité/Caractéristiques logistiques et sanitaires des écuries ...	44
3.2.1.2.2	Relation positivité/Signes cliniques pouvant être associés à la babésiose dans les écuries	47
3.2.1.3	A l'échelle de l'environnement des chevaux autour des écuries	48
3.2.1.3.1	Relation positivité/Animaux présents au contact des chevaux	48
3.2.1.3.2	Relation positivité/Végétation.....	51
3.2.2	<i>Approche des facteurs de confusion intervenant lors de l'analyse bivariée</i>	52

4 DISCUSSION	55
4.1 PROTOCOLE RÉALISÉ	55
4.1.1 <i>L'échantillon prélevé</i>	55
4.1.2 <i>Le test diagnostic</i>	56
4.1.3 <i>La période de prélèvement</i>	56
4.1.4 <i>Les questionnaires</i>	57
4.2 PRÉVALENCE DE LA BABÉSIOSE EN CAMARGUE COMPARÉE AUX AUTRES RÉGIONS DU MONDE.....	57
4.3 FACTEURS DE RISQUE ET FACTEURS PROTECTEURS MIS EN ÉVIDENCE GRACE A L'ANALYSE BIVARIEE.....	59
4.3.1 <i>A l'échelle individuelle</i>	59
4.3.2 <i>A l'échelle des écuries</i>	61
4.3.3 <i>Commentaire quant à l'absence de corrélation signes cliniques/positivité</i>	62
4.4 APPLICATION PRATIQUE À LA LUTTE CONTRE LA BABÉSIOSE EN CAMARGUE	62
4.4.1 <i>Medications à disposition</i>	62
4.4.1.1 <i>Traitement des chevaux porteurs chroniques</i>	62
4.4.1.2 <i>Chimioprévention</i>	63
4.4.2 <i>Lutte contre les tiques</i>	63
4.4.2.1 <i>Durant la vie libre de la tique</i>	63
4.4.2.2 <i>Lorsque la tique est accrochée sur le cheval</i>	64
4.4.3 <i>Méthodes d'élevages et lutte contre la transmission de la babésiose</i>	64
Conclusion	66
Annexes.....	67
Bibliographie	83

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : morphologie de <i>Babesia caballi</i> dans les hématies	11
Figure 2 : morphologie de <i>Babesia equi</i> dans les hématies.....	11
Figure 3 : cycle évolutif de <i>Babesia caballi</i>	13
Figure 4 : cycle évolutif de <i>Babesia equi</i>	14
Figure 5 : cinétique des anticorps après une infection expérimentale à <i>B. caballi</i>	20
Figure 6 : cinétique des anticorps après une infection expérimentale à <i>B. equi</i>	20
Carte 1 : zones géographiques retenues	25
Carte 2 : localisation des écuries retenues	26

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : caractérisation de la population des chevaux de Camargue (caractéristiques physiques et sanitaires)	33
Tableau 2 : caractérisation de la population des chevaux de Camargue (caractéristiques de l'habitat, historique)	34
Tableau 3 : caractérisation des « écuries » camarguaises	36
Tableau 4 : caractérisation de l'environnement des « écuries » camarguaises (mammifères). .	37
Tableau 5 : relation entre l'activité principale des chevaux et leur statut sérologique vis-à-vis de <i>B. caballi</i> et de <i>B. equi</i>	39
Tableau 6 : relation entre les caractéristiques physiques et sanitaires des chevaux et leur statut sérologique vis-à-vis de <i>B. caballi</i>	40
Tableau 7 : relation entre les caractéristiques physiques et sanitaires des chevaux et leur statut sérologique vis-à-vis de <i>B. equi</i>	41
Tableau 8 : relation entre les caractéristiques des chevaux et leur statut sérologique vis-à-vis de <i>B. caballi</i> (caractéristiques de l'habitat et historique)	43
Tableau 9 : relation entre les caractéristiques des chevaux et leur statut sérologique vis-à-vis de <i>B. equi</i> (caractéristiques de l'habitat et historique)	44
Tableau 10 : relation entre les caractéristiques des écuries et leur statut sérologique vis-à-vis de <i>B. caballi</i>	46
Tableau 11 : relation entre les caractéristiques des écuries et leur statut sérologique vis-à-vis de <i>B. equi</i>	47
Tableau 12 : relation entre les signes cliniques relevés dans les écuries et leur statut sérologique vis-à-vis de <i>B. caballi</i>	48
Tableau 13 : relation entre les signes cliniques relevés dans les écuries et leur statut sérologique vis-à-vis de <i>B. equi</i>	49
Tableau 14 : relation entre les caractéristiques de l'environnement (faune) des écuries et leur statut sérologique vis-à-vis de <i>B. caballi</i>	50
Tableau 15 : relation entre les caractéristiques de l'environnement (faune) des écuries et leur statut sérologique vis-à-vis de <i>B. equi</i>	51
Tableau 16 : relation entre les caractéristiques de l'environnement (flore) des écuries et leur statut sérologique vis-à-vis de <i>B. caballi</i>	52
Tableau 17 : relation entre les caractéristiques de l'environnement (flore) des écuries et leur statut sérologique vis-à-vis de <i>B. equi</i>	52
Tableau récapitulatif 18 : facteurs de risque et de protection mis en évidence grâce à l'analyse bivariée.	53
Tableau 19 : facteurs de risques et de protection utilisés au cours de la discussion.	55

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : cliniques vétérinaires participant à l'étude.....	68
Annexe 2 : compte rendu de la réunion d'information du 30 octobre 2001	69
Annexe 3 : guide de procédure	72
Annexe 4 : questionnaire cheval	73
Annexe 5 : questionnaire environnement	76
Annexe 6 : fiche d'information aux propriétaires	80
Annexe 7 : consentement éclairé des propriétaires ou des responsables d'écurie	82

INTRODUCTION

La babésiose équine (ou piroplasmose équine) est une protozoose infectieuse, non contagieuse, provoquée par le développement et la multiplication dans les hématies des équidés de parasites du genre *Babesia* inoculés par des tiques. Deux espèces de babesi sont en cause : *Babesia equi* et *Babesia caballi*. On devrait donc parler des babésioses ou des piroplasmoses et non de la babésiose ou de la piroplasmose.

Dans sa forme aiguë, elle induit de manière brutale une très forte fièvre, une anémie sévère et un ictère hémolytique. Ces symptômes permettent souvent au praticien vétérinaire de diagnostiquer l'affection et de traiter le patient. Dans sa forme chronique en revanche, les symptômes restent beaucoup plus frustes : une baisse d'état général, une anémie persistante sont des signes d'appel mais l'affection passe le plus souvent inaperçue. La connaissance de l'épidémiologie de la maladie prend alors toute sa place. En effet, c'est grâce aux données épidémiologiques que l'on pourra suspecter un portage chronique en zone d'endémie, prévenir la contamination ou diagnostiquer un accès aigu sur un cheval naïf lors de son introduction dans une zone à risque, ou encore mettre en place des programmes d'éradication de la maladie. Quand on sait que la babésiose représente un réel problème sanitaire (l'accès aigu peut s'avérer fatal), et qu'elle est aussi un problème économique et sportif (les chevaux porteurs chroniques n'ont pas accès à certains pays ou continents, ce qui leur interdit le commerce et la participation à certaines compétitions internationales), on comprend mieux que les acteurs du «monde du cheval » puissent s'intéresser au statut sérologique de leurs chevaux vis-à-vis de cette maladie.

Dans notre étude, la prévalence et les facteurs de risque de la babésiose équine ont été analysés sur des chevaux résidant dans une zone géographique particulière de par son climat, ses biotopes et sa population de chevaux : la Camargue. Après avoir rappelé les bases théoriques nécessaires à sa réalisation, nous nous intéresserons au protocole retenu et aux résultats obtenus. Ces résultats nous permettront de décrire la population des chevaux en Camargue et de connaître la prévalence et les facteurs de risque de cette maladie dans cette région. Enfin, nous discuterons ces résultats.

Avant propos : la babésiose, un vrai problème économique et sanitaire ; un exemple : les JO d'Atlanta (9)

Afin de permettre au lecteur d'apprécier pleinement l'intérêt que peuvent avoir à la fois la connaissance de la prévalence de la babésiose dans une région donnée et la connaissance de l'épidémiologie d'une telle maladie, nous avons pris l'exemple des mesures de lutte visant à éviter l'introduction de cette protozoose en Géorgie, région indemne, lors des Jeux Olympiques d'Atlanta de 1996.

Le Georgia International Horse Park (GIHP) devait accueillir tous les chevaux participant à la compétition. Cet espace était composé d'un centre de 60 hectares regroupant les carrières de dressage et d'obstacle, les écuries et les installations vétérinaires, et, autour de ce centre, d'une zone de 520 hectares composée de bois, d'aires de footing, d'un golf et de petites rivières.

Un programme de contrôle de la babésiose fut mis en place par le Département de l'Agriculture des Etats Unis.

Comme la prévention de la transmission de la maladie passait par un contrôle de la population de tiques, la première des mesures fut de pulvériser un acaricide sur les 60 ha du centre du GIHP quatre fois entre fin Avril et fin Août. Toutes les écuries furent à nouveau traitées juste avant l'arrivée des chevaux, et les carrières juste avant le début des compétitions. Ces mesures devaient permettre d'éliminer les tiques sur cette zone.

Une seconde mesure passa par la lutte contre les vecteurs indirects qui auraient pu introduire des tiques dans le centre du GIHP. Une clôture fut donc installée tout autour des 60 ha afin d'éviter le contact avec les animaux sauvages. Un programme de lutte contre les petits rongeurs porteurs de larves, nymphes et tiques adultes fut mis en place et les chiens furent interdits dans le GIHP. Tout cheval pénétrant dans l'enceinte du GIHP était inspecté par un personnel de surveillance. Il ne devait pas héberger de parasite, sinon lui et tout son équipement étaient traités avec un acaricide.

Une troisième étape dans la lutte contre la babésiose fut la surveillance biquotidienne de tous les chevaux et de leur matériel qui ne devait pas présenter de tiques. Des traitements topiques acaricides préventifs leur furent aussi appliqués, ce qui devait permettre d'éliminer ces parasites avant qu'ils n'aient pu s'infecter au contact d'éventuels chevaux porteurs.

Tout le foin introduit dans le GIHP devait provenir d'une zone indemne de tiques, et le matériel de distribution devait avoir été parfaitement nettoyé.

La dernière mesure concernait les chevaux ayant présenté une séropositivité à *Babesia equi* et *Babesia caballi* lors du dépistage obligatoire avant l'arrivée sur les lieux de la compétition.

L'organisation du concours limita à 20 le nombre de chevaux séropositifs autorisés, minimisant ainsi le réservoir potentiel de babesi et le risque de transmission.

Lors de leur arrivée à l'aéroport, ces chevaux étaient mis en quarantaine, et escortés par un service de surveillance directement jusqu'à la « Piroplasmosis Restricted Area (PRA) », zone du GIHP dans laquelle toute végétation avait été supprimée afin que d'éventuelles tiques survivantes ne puissent pas se multiplier. Là les chevaux étaient confinés 24 heures, ce qui devait permettre de vérifier qu'aucun contact accidentel avec des vecteurs n'ait pu se produire.

Une identification particulière leur fut attribuée. Ces chevaux n'avaient le droit de quitter cette zone PRA que pour se rendre sur le terrain de détente avant la compétition et pour participer aux épreuves, ou encore en cas d'urgence médicale ou chirurgicale pour être soignés.

Les zones sur lesquelles devaient se dérouler les épreuves d'endurance et de concours complet ne se limitant pas aux seuls 60 ha du centre du GIHP, les chevaux séropositifs n'eurent pas l'autorisation de participer à ces épreuves. C'est ainsi que le couple français Twist Labège et Jean-loup Bibot, champion d'Europe de concours complet en 1995 ne put participer aux Jeux Olympiques cette année-là.

Le nombre de personnes ayant accès à cette zone fut limité et tout le fumier issu du PRA fut détruit. Enfin, les chevaux séropositifs n'eurent pas l'autorisation d'arriver en Géorgie avant le 1er juillet 1996 et durent repartir avant le 7 août 1996.

Afin de contrôler l'efficacité de ce plan de lutte contre la babésiose, deux chevaux sentinelles furent utilisés : l'un fut logé dans la PRA, l'autre avec les chevaux indemnes. On put ainsi contrôler l'absence de tique sur ces animaux et les tester de manière répétée afin de vérifier qu'ils ne présentaient pas de séro-conversion durant la période du concours et durant les 60 jours suivants.

Pour finir, après leur départ, tous les chevaux ayant séjourné sur le site subirent un test de dépistage afin de contrôler qu'ils n'aient pas séro-converti.

Cet exemple permet d'apprécier tous les moyens mis en œuvre pour maintenir une zone indemne en y introduisant des chevaux séropositifs. Le lecteur se sera rendu compte que certains chevaux n'ont pu participer aux épreuves du seul fait qu'ils étaient porteurs sains de babesi. Cette maladie apparaît donc comme un frein à la circulation des chevaux, ce qui compromet parfois leur participation à la compétition.

Ceci illustre l'intérêt de la connaissance du statut sérologique des chevaux vis-à-vis de la babésiose dans les différentes régions du monde et notamment en France.

La présentation des bases théoriques de l'épidémiologie dans le premier chapitre permettra de mieux comprendre le programme de lutte mis en place ici.

1 BASES THEORIQUES NECESSAIRES A L'ETUDE

EPIDEMIOLOGIQUE DE LA BABESIOSE EN CAMARGUE

Lors de la réalisation de notre protocole d'étude, des connaissances concernant les parasites, l'épidémiologie de la maladie et l'évolution de l'immunité au cours de l'infection se sont avérées indispensables. En effet, comment choisir les critères permettant de définir des facteurs de risque pour la maladie sans connaître le cycle théorique du parasite ? Comment choisir un test de dépistage sans connaître la cinétique des anticorps au cours de l'infection ?

Cette partie devrait permettre au lecteur de mieux comprendre à la fois le choix du protocole utilisé dans notre étude, mais aussi les similitudes et les différences de l'épidémiologie de la babésiose en Camargue comparée à l'épidémiologie théorique.

1.1 ETIOLOGIE

1.1.1 TAXINOMIE DES PARASITES

C'est J. Euzeby qui, en 1987, propose la classification suivante pour *Babesia equi* et *Babesia caballi* (38).

Ces parasites font partie de l'Embranchement des Protozoa, sous-Embranchement des Plasmodium, Classe des sporozoasida, sous-Classe des Haemosporidiasina, Ordre des Achromatorida.

Pour la suite de la taxinomie, J. Euzeby classe *Babesia caballi* dans le sous-Ordre des Babesiina, Famille des babesiidés alors qu'il classe *Babesia equi* dans le sous-Ordre des Theileriina, Famille des Theileriidés (*Theileria equi* que l'on peut trouver dans certaines publications n'est autre qu'un synonyme de *Babesia equi*).

A l'heure actuelle, la position taxinomique de *B. equi* n'est toujours pas très claire. En effet, *B. equi* se rapproche du genre *Theileria* si on se réfère à des critères morphologiques et biologiques ; par contre, d'un point de vue phylogénétique, lorsqu'on analyse les ARN ribosomiaux, *B. equi* n'appartiendrait ni au Genre *Babesia* ni au Genre *Theileria* (1) (11) (36).

Dans la littérature, on retrouve donc *Babesia caballi* sous la dénomination *B. caballi* (ou *Piroplasma caballi* dans les anciennes publications) alors que *B. equi* peut être nommé *Theileria equi* (ou même dans certaines publications très anciennes *Nutallia equi* du nom d'un chercheur français ayant beaucoup travaillé sur les agents de la piroplasmose dans les années 1910).

1.1.2 MORPHOLOGIE DES PARASITES (33)

1.1.2.1 BABESIA CABALLI

Ce parasite unicellulaire mesure 2 à 5 micromètres de long et 1,3 à 3 micromètres de diamètre. Il est piriforme le plus souvent mais apparaît quelques fois sphérique. Dans les hématies, on le retrouve isolé ou groupé par deux, unis par leurs extrémités pointues (62).

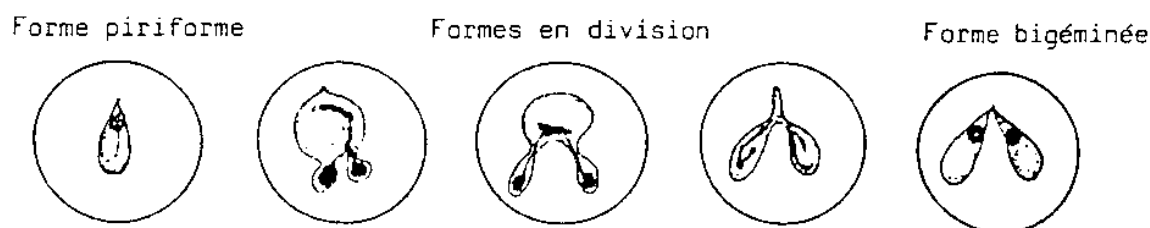


Figure 1 : morphologie de *Babesia caballi* dans les hématies (51)

1.1.2.2 BABESIA EQUI

Il est plus petit que *B. caballi*, d'une longueur maximale de 3 micromètres, de forme allongée, sphérique ou piriforme. Dans les globules rouges, on le retrouve seul, à deux, quatre et jusqu'à six ou huit cellules. Cependant dans la majorité des cas, on observe quatre cellules qui prennent alors une disposition particulière appelée « croix de Malte » (62).

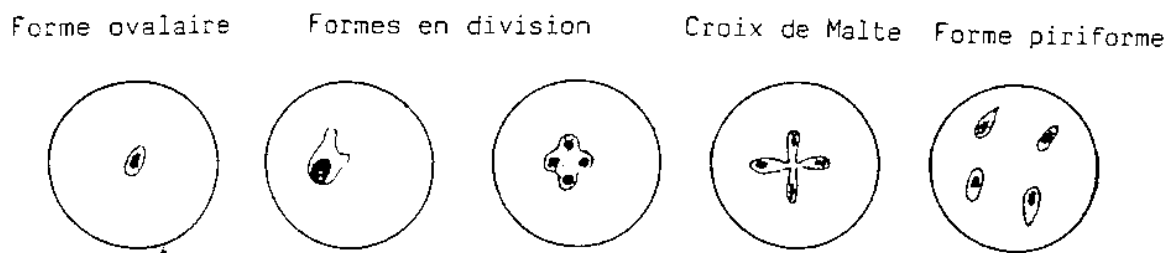


Figure 2 : morphologie de *Babesia equi* dans les hématies (51)

1.1.3 CYCLES EVOLUTIFS DES PARASITES

1.1.3.1 DEVELOPPEMENT CHEZ LE CHEVAL

1.1.3.1.1 *Babesia caballi* (cf figure 3)

Chez le cheval, le parasite est transmis par la tique vectrice sous sa forme sporozoïte. Les sporozoïtes pénètrent directement dans les hématies, et la suite du développement s'effectue uniquement sous forme endo-érythrocytaire. Se produisent alors des mérogonies successives (correspondant à une multiplication asexuée du parasite) et le début de la gamogonie (formation des gamètes) (59) (33).

1.1.3.1.2 *Babesia equi* (cf figure 4)

A la différence de *B. caballi*, il existe deux étapes successives. Dans la première, exo-érythrocytaire, le sporozoïte pénètre dans un lymphocyte (caractère de theilériidés) dans lesquels apparaissent alors des vacuoles parasitophores siège de la schizogonie. Les mérozoïtes ainsi formés vont ensuite envahir les hématies.

Dans la seconde phase, endo-érythrocytaire, les mérozoïtes évoluent en gamétocytes de forme annulaire, capables de se multiplier. C'est à ce moment là que les croix de Malte sont visibles au microscope (59) (49) (11).

A ce stade, les gamétocytes de *B. caballi* et de *B. equi* n'évoluent plus chez le cheval, la suite du cycle s'effectuant chez la tique vectrice.

1.1.3.2 DEVELOPPEMENT CHEZ LA TIQUE VECTRICE

1.1.3.2.1 Espèces vectrices (65)

Pour *Babesia caballi*

En France et en Europe, *Dermacentor reticulatus*, tique de saison fraîche et humide et *Dermacentor marginatus*, tique de saison plus chaude et sèche, assez abondants dans le Midi méditerranéen, sont les deux espèces vectrices du parasite. Ce sont des tiques sauvages, triphasiques (elles changent d'hôte à chaque repas (larve, nymphe, adulte)), et ditropes (la larve et la nymphe se nourrissent sur des petits mammifères comme les rongeurs, l'adulte prend son repas de sang sur le cheval). Les biotopes favorables pour ces tiques sont les lisières de forêt, les haies et les prairies herbeuses et leur activité est maximale au printemps et à l'automne.

Pour *Babesia equi*

La transmission a lieu en France et en Europe grâce à *Rhipicephalus bursa*, tique diphasique (la larve et la nymphe prennent leur repas sur le même hôte, l'adulte sur un hôte différent) et monotrope (quel que soit le stade, l'hôte est un équidé). On la retrouve également dans les prairies herbeuses et les lisières de forêt, surtout au printemps et à l'automne.

1.1.3.3 DEROULEMENT DU CYCLE

Pour *Babesia caballi* (cf figure 3)

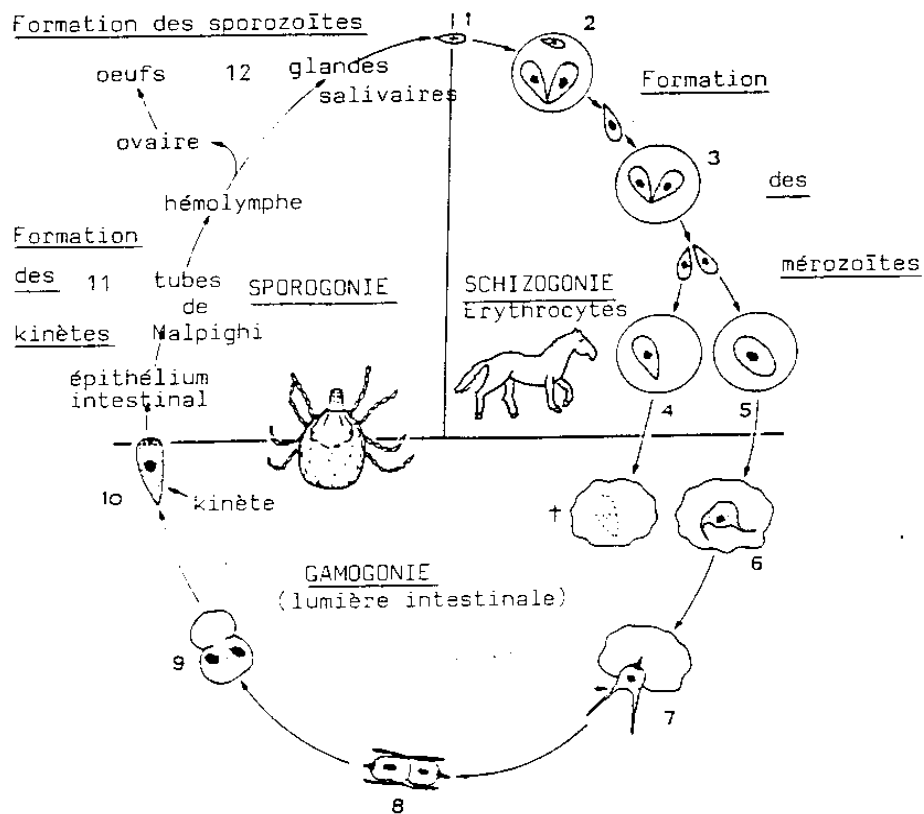
Les gamétocytes évoluent en gamètes, il se produit alors la fécondation et la formation des zygotes. La sporogonie conduit à la libération de sporokinètes qui envahissent la tique femelle et ses ovocytes, ce qui permet une transmission trans-ovarienne du parasite (16). Quelques jours après la fixation de la tique sur le cheval, les sporokinètes évoluent en sporozoïtes infectants au niveau des glandes salivaires de la tique (33) (59).

Pour *Babesia equi* (cf figure 4)

La larve et la nymphe se nourrissent sur le même cheval infecté. La gamogonie a lieu chez la nymphe et ce n'est que lorsque la tique devient adulte et qu'elle se fixe sur un autre cheval que se produit la sporogonie et l'infestation des glandes salivaires (76). Il s'agit ici d'une transmission trans-stadiale (18) du parasite (caractère de Theilériidés).

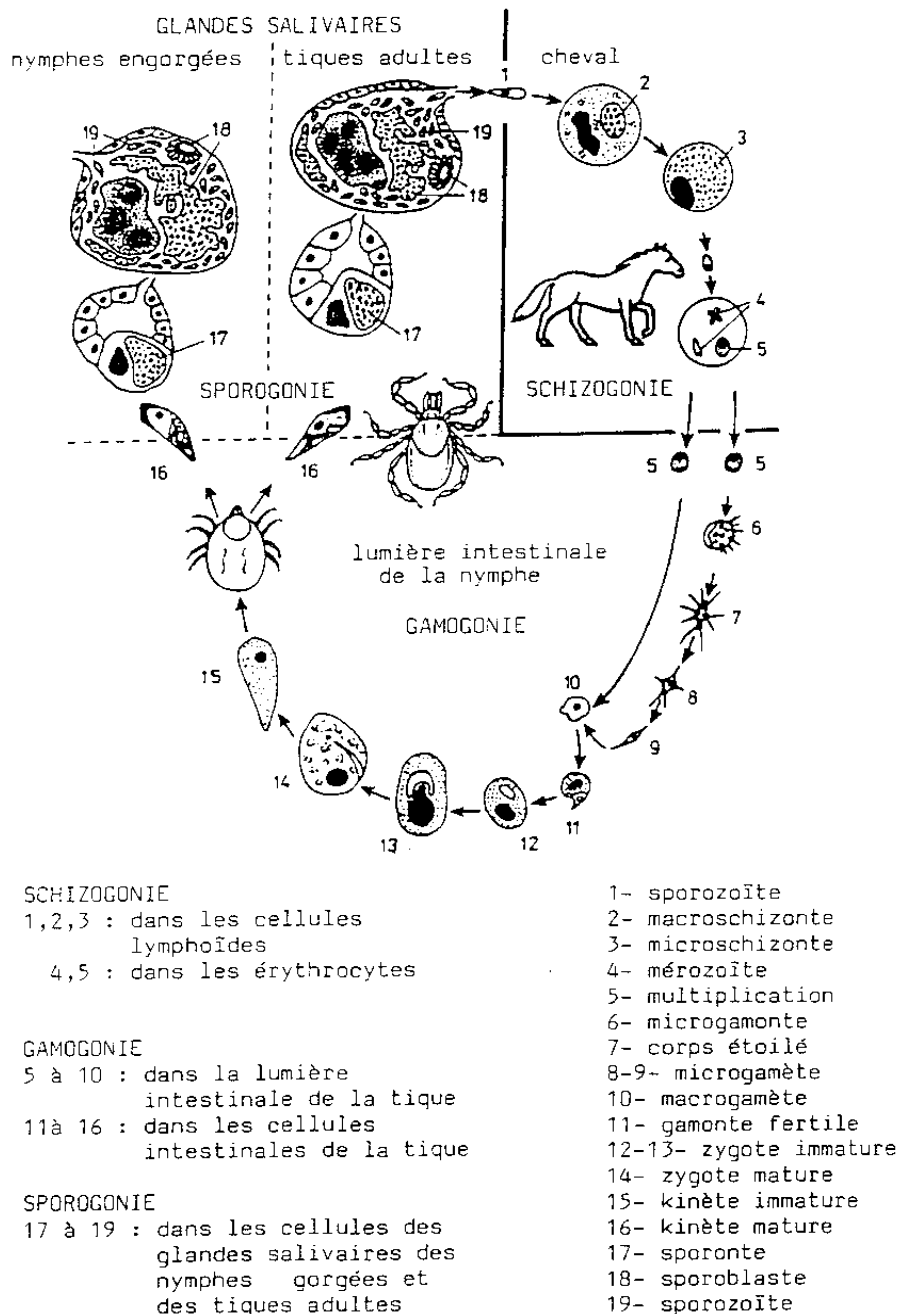
1.1.3.4 SCHEMAS RECAPITULATIFS

Figure 3 : cycle évolutif de *Babesia caballi* (49)



- | | |
|--|---|
| 1 sporozoïte | 7-8-9 fusion puis formation de kinètes mobiles |
| 2-3 reproduction asexuée dans les érythrocytes par fission binaire : formation de mérozoïtes | 11 colonisation des différents organes et multiplication active |
| 4 lyse des mérozoïtes dans la lumière intestinale de la tique | 12 pénétration des kinètes dans les glandes salivaires et transformation en sporozoïtes |
| 5-6 stades intraérythrocytaires après ingestion | |

Figure 4 : cycle évolutif de *Babesia equi* (78)



L'une des différences essentielles entre les deux babesi est donc le mode de transmission chez la tique vectrice. *B. caballi* et *B. equi* ne sont pas transmis par les mêmes tiques, et leurs cycles diffèrent quelque peu, ce qui influe sur l'épidémiologie de la maladie.

1.2 EPIDEMIOLOGIE THEORIQUE

1.2.1 EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE (48)

B. caballi et *B. equi* sont largement répandus dans les zones tropicale et subtropicale, mais on les retrouve aussi en zone tempérée. Du fait des similitudes de biotope des tiques vectrices, les deux babesi sont souvent associées. Cependant, il semble que les babésioses associées à *B. equi* soient plus répandues que celles dues à *B. caballi* (65).

1.2.1.1 EN FRANCE

Une étude réalisée entre 1974 et 1988 par C. Soulé et col. (66) montre que les babésioses sont endémiques dans le sud du pays avec une prédominance de *B. equi* sur le pourtour méditerranéen, mais qu'on les retrouve aussi dans les vallées de la Loire, du Rhône, dans le pays de Loire et en Normandie.

1.2.1.2 SUR LE VIEUX CONTINENT, DE L'EUROPE A L'ASIE (65)

Les babésioses s'étendent du Portugal et de l'Espagne jusqu'à la péninsule des Balkans, la Hongrie, la Roumanie, en passant par la France et l'Italie.

La Belgique, la Suisse, l'Autriche, la République Tchèque et la Pologne sont situées aux limites de l'aire de distribution.

L'Irlande, le Royaume Uni, les Pays Bas, les pays Scandinaves et l'Allemagne sont des pays dans lesquels les babésioses équine ne sont pas présentes de façon endémique.

Dans la ceinture forestière de la Russie centrale, les infections à *B. caballi* s'étendent jusqu'au 58^{ème} degré de latitude nord, ce qui calque l'aire de répartition de *Dermacentor reticulatus*.

En Asie, comme en Chine (74) ou en Corée, les babésioses se retrouvent à l'état endémique (50), à l'exception de la Sibérie et du Japon (30).

L'Israël et la Mongolie ne sont là encore pas épargnés (60) (3).

1.2.1.3 DANS LE RESTE DU MONDE

L'Afrique est un continent où *B. equi* est présent à l'état hyperendémique (75). Pour *B. caballi*, les infections sont fréquentes au Soudan, et sont absentes au Zaïre.

L'Australie est le seul continent où les babesi ne se sont pas implantées car les tiques vectrices ne sont pas encore présentes sur ce continent (46) (14) (59), et ce malgré l'importation de chevaux espagnols porteurs en 1976. La Nouvelle Zélande est aussi indemne de la maladie.

Au Brésil et dans toute l'Amérique Latine, les deux espèces de babesi sévissent à l'état hyperendémique (52) (29).

Enfin, les Etats Unis et le Canada sont indemnes de *B. caballi* et *B. equi*, à l'exception de la Floride où *B. caballi* a été introduit accidentellement par des chevaux cubains en 1959 (12) et où toutes les mesures de lutte mises en place depuis n'ont pas permis d'éradiquer les parasites (68).

1.2.2 EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE

Les babésioses équine sont des maladies de chevaux vivant au pré à l'herbe ou tout au moins à l'extérieur. On les retrouve le plus souvent au printemps et à l'automne et elles affectent plutôt les jeunes chevaux. Ces traits épidémiologiques sont étroitement liés aux vecteurs, les tiques, à certains facteurs intrinsèques de leurs hôtes et à la spécificité des babesi infectantes.

1.2.2.1 SOURCES DE PARASITES

Il existe des sources directes, les tiques, et des sources indirectes, les chevaux porteurs.

1.2.2.1.1 Sources directes : les tiques

Dans le cas de *B. caballi*, la tique peut transmettre le parasite aux générations suivantes par voie trans-ovarienne, il existe alors une grande diffusion de l'infection par la descendance de la tique. Dans l'association tique-cheval, c'est donc la tique qui permet de pérenniser le cycle de *B. caballi*, le cheval n'étant infectant que sur une très courte période pour la tique (65).

Pour *B. equi* en revanche, il n'existe pas de transmission trans-ovarienne, mais le cheval peut rester porteur de nombreuses années. De plus, même si l'infection est très limitée avec un très faible nombre de parasites circulants, la nymphe se contamine très facilement. Il a en effet été démontré que 85 à 92% des nymphes se nourrissant sur un cheval porteur peuvent ensuite transmettre le parasite, et ce en dépit d'une très faible parasitémie (26). En outre, la tique adulte ayant une grande longévité, elle réalise plusieurs repas sur des chevaux différents, ce qui autorise une grande diffusion du parasite.

1.2.2.1.2 Sources indirectes : les chevaux infectés

Les études menées sur le long terme montrent que *B. caballi* persiste chez le cheval pendant plus de 6 mois mais il est possible qu'il ne soit jamais éliminé totalement (70).

En ce qui concerne *B. equi*, il semble qu'une parasitémie discrète persiste tout au long de la vie du cheval, les études les plus longues démontrant la persistance de l'infection un an et demi post-infection (70). Dans l'association tique-cheval, il semble que ce soit le cheval, par son portage latent de très longue durée, qui joue le rôle principal dans la survie du parasite (65). C'est donc le cheval qui représente le réservoir pérenne pour *B. equi*.

1.2.2.2 MODES D'INFECTION

La morsure par une tique représente le mode de transmission principal de *B. caballi* et de *B. equi*. Cette transmission ne se produit qu'après plusieurs jours de fixation sur l'hôte, temps nécessaire à la tique pour devenir infectante.

L'infection du fœtus équin in utero est possible par voie transplacentaire au cours de la vie embryonnaire. En effet, chez certains poulains, le délai entre la naissance et l'apparition d'une parasitémie et de signes cliniques est inférieur au temps de latence théorique entre l'infection et l'apparition de la phase clinique de la maladie, ce qui signe une contamination anté-natale (15) (19) (21).

Il a aussi été démontré de manière exceptionnelle une transmission par des aiguilles souillées ou lors de transfusion (2).

1.2.2.3 RECEPTIVITE

1.2.2.3.1 Espèces

Tous les équidés sont susceptibles d'héberger *B. caballi* ou *B. equi*. Ainsi, on peut trouver ces parasites sur les ânes et sur les mulets mais le cheval reste l'espèce la plus sensible (59).

1.2.2.3.2 Races

Il ne semble pas que la race influe sur la réceptivité de la maladie, toutes les races d'une même zone endémique pouvant être touchées (59).

1.2.2.3.3 Age

Lorsqu'une jument reproductrice héberge le parasite, ce qui est en général le cas en foyer d'endémie, elle transmet à son poulain des anticorps via le colostrum. En cas d'infection durant cette période de protection, ces poulains sont plus résistants que les adultes et ne sont en général atteints que par des formes sub-cliniques de la maladie. En revanche, en zone indemne, le jeune reste très sensible (21) (45) (61).

1.2.2.3.4 Rôle de l'immunité

Il est clairement démontré que l'état immunitaire des chevaux influe sur le développement de la forme clinique de la maladie en cas de contact avec le parasite. Les chevaux immuno-déprimés ayant reçu de fortes doses de corticostéroïdes (28) ou ayant été splénectomisés (38) ne peuvent pas lutter contre la multiplication des parasites au sein des hématies et meurent dans les dix jours suivant l'infection. De plus, il n'est pas rare de voir des chevaux porteurs sains faire des rechutes de piroplasmose clinique suite à un stress du type transport, période de compétition intense, fin de gestation ou lactation, maladie intercurrente, etc.

1.2.3 EPIDEMIOLOGIE SYNTHETIQUE

En zone de pression d'infection forte (présence de tiques vectrices et de babesi, biotope favorable), la babésiose évolue sous forme d'endémie, voir d'hyperendémie. Les chevaux présentant des signes cliniques sont rares, les formes sub-cliniques de la maladie restant les plus fréquentes.

En zone indemne, deux cas de figure sont possibles lors de l'introduction de chevaux porteurs :

- soit il n'existe pas d'espèce de tique vectrice dans cette zone, auquel cas il n'y aura pas de transmission de la maladie, la babésiose n'étant pas contagieuse,
- soit il existe une tique susceptible de transmettre le parasite et on pourra alors assister à une véritable épidémie avec de très nombreux chevaux présentant une forme clinique de la maladie. Dans ce dernier cas de figure, les pertes économiques pourront être très importantes car de nombreux chevaux nécessiteront un suivi médical et certains mourront, d'où l'intérêt de connaître, avant d'introduire un cheval en zone indemne s'il est ou non porteur de l'une ou l'autre des babesi. C'est grâce au dépistage expérimental que l'on peut aujourd'hui évaluer ce risque.

La connaissance des mécanismes de l'immunité mise en place suite à une infection permettra de comprendre les tests réalisés à l'heure actuelle.

1.3 REPONSE IMMUNITAIRE DE L'HOTE

1.3.1 IMMUNITE DE PREMUNITION (44) (59)

Chez le cheval, le statut sérologique vis à vis de *B. caballi* ou de *B. equi* est intimement lié au statut de porteur chronique de l'un ou l'autre de ces parasites.

Si le cheval est porteur, il est obligatoirement séropositif. Par contre, si on réussit à stériliser ce cheval grâce à un traitement médical babésicide approprié, il redevient séronégatif (cette affirmation sera discutée dans la suite de notre travail).

Autrement dit, il n'existe des anticorps anti-babesia que lorsque que le cheval est porteur du parasite. C'est ce que l'on appelle l'immunité de co-infection ou immunité de prémunition. Ainsi, lorsqu'un cheval porteur est mis en contact avec une tique infectée, il ne présente pas de surinfection car la réponse immunitaire permet de contenir le parasite, la parasitémie reste faible et le cheval ne développe pas de babésiose clinique.

1.3.2 NATURE DE L'IMMUNITE DE PREMUNITION

1.3.2.1 IMMUNITE A MEDIATION CELLULAIRE

Un test intradermique faisant intervenir une réaction d'hypersensibilité retardée à des antigènes de *B. equi* a permis de mettre en évidence une infiltration de cellules mononucléées au point d'injection (4), ce qui tend à démontrer qu'un phénomène à médiation cellulaire intervient au cours de la réponse immunitaire.

De plus, un cheval splénectomisé est incapable de combattre la maladie et meurt dans les 10 à 12 jours post-infection (38). Or la rate est le siège de la coopération entre les lymphocytes B, les lymphocytes T et les macrophages. C'est à l'intérieur de la rate que se produit la phagocytose des hématies parasitées ayant été opsonisées. Ce sont les macrophages spléniques qui permettent via l'érythrophagocytose de maintenir la parasitémie à des niveaux très faibles.

L'immunité à médiation cellulaire est donc indispensable au bon déroulement de la réponse immunitaire permettant de lutter contre la multiplication des parasites dans un organisme infecté. Nous allons voir maintenant que l'immunité à médiation humorale l'est tout autant.

1.3.2.2 IMMUNITÉ À MÉDIATION HUMORALE

Le transfert passif par injection d'un immun sérum chez un animal naïf lui confère une protection partielle et de courte durée envers une infection à *Babesia*, avec une immunité spécifique contre l'espèce de *Babesia* neutralisée par le sérum (59).

De plus, les poulains nés de mères infectées ne présentent pas, en général, de signes cliniques de babésiose lorsqu'ils sont mis en contact pour la première fois avec le parasite alors que les poulains issus de mères indemnes développent la maladie. Cela signe un transfert passif d'immunité via le colostrum. Ce transfert passif a été objectivé par Donnelly et Phipps en 1982 (19) qui ont mis en évidence des anticorps fixant le complément chez des poulains de moins d'un an nés en Angleterre (zone indemne) de mères lusitaniennes importées du Portugal. Chez ces juments positives, le taux d'anticorps demeurerait constant alors que le taux d'anticorps des poulains diminuait régulièrement jusqu'à disparaître totalement à quatre mois d'âge.

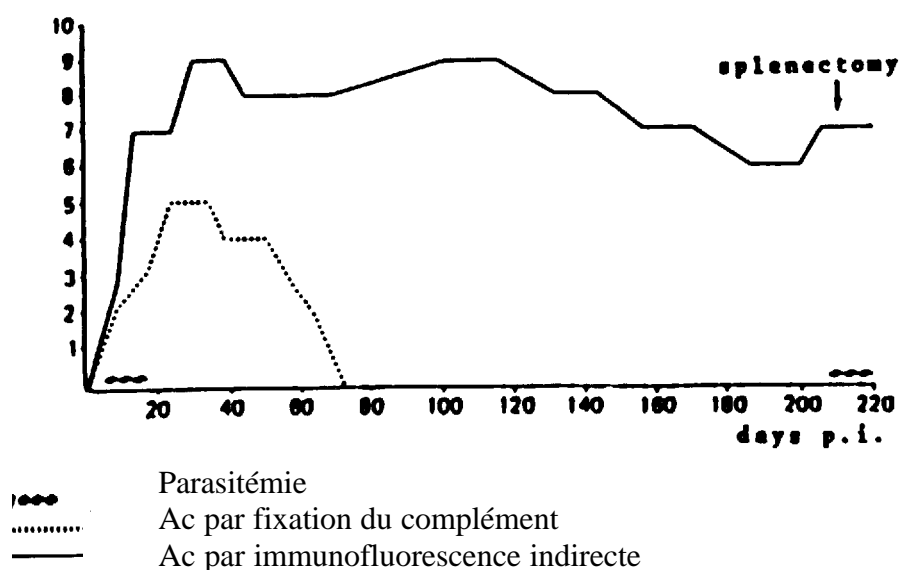
En outre, il a été démontré que des poulains immunodéprimés, manquant de lymphocytes B et T matures, sont incapables de combattre l'infection car ils ne peuvent pas développer de réponse immunitaire spécifique et donc contrôler leur parasitémie ; ce malgré la présence chez ces mêmes poulains, d'un système du complément fonctionnel, de macrophages, de granulocytes, de lymphocytes T natural killer et d'une rate intacte (38).

L'immunité mise en place lors d'une infection à *B. caballi* ou *B. equi* fait donc intervenir une immunité à médiation cellulaire et une immunité à médiation humorale ; c'est l'étude de la cinétique des anticorps au cours de l'infection qui permettra d'expliquer le choix des tests de dépistage.

1.3.3 CINÉTIQUE DES ANTICORPS (17) (70) (25) (70)

Plusieurs études se sont intéressées à l'évolution au cours du temps du taux d'anticorps sur des chevaux infectés expérimentalement par *B. caballi* ou *B. equi* (17). Les tests de dépistage utilisés n'ayant pas toujours le même seuil de détection, les conclusions quant au jour de détection des premiers anticorps et au jour où les anticorps ne sont plus décelés dans le sérum varient quelque peu. Cependant, dans chaque étude, les premiers anticorps peuvent être dépistés en moyenne entre 7 et 11 jours post-inoculation et présentent un pic 30 à 45 jours après infection. Ces anticorps déclinent ensuite sans jamais disparaître totalement tant que le cheval reste porteur du parasite. Dans les études portant sur les périodes les plus longues, les anticorps anti-*B. caballi* ont été détectés 190 jours post-infection, ce qui correspondait à la fin de l'étude (70) ; les anticorps anti-*B. equi* étant dépistés jusqu'à 455 jours post-inoculation, là encore jusqu'à la fin de l'étude (70).

Les figures 5 et 6 illustrent la cinétique de ces anticorps après un contact avec chacune des *Babesia*.



(71) **Figure 5 : cinétique des anticorps après une infection expérimentale à *B. caballi***

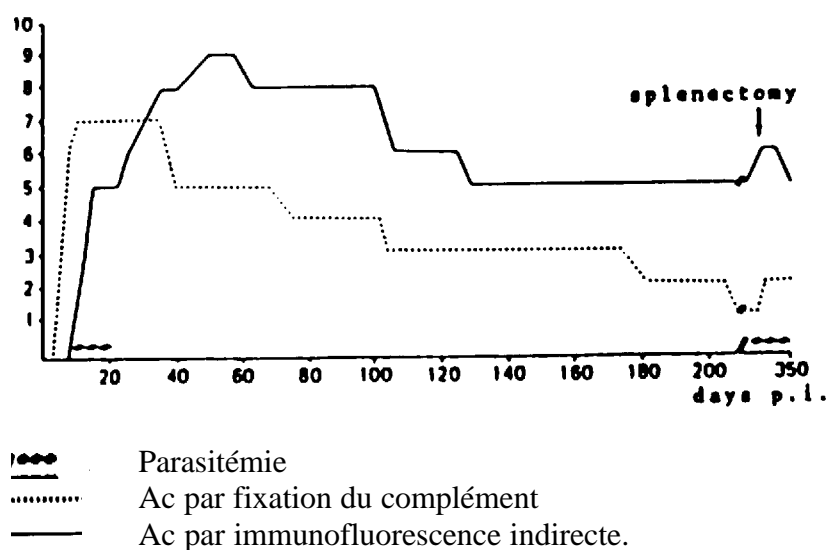


Figure 6 : cinétique des anticorps après une infection expérimentale à *B. equi* (71)

Deux éléments importants peuvent être dégagés de ces courbes :

- la cinétique théorique des Ac varie en fonction du test de dépistage réalisé. En effet, pour *B. caballi*, si l'on considère le test de fixation du complément, il semble que les Ac disparaissent 90 jours après l'infestation ; alors qu'ils semblent persister au moins 200 jours si l'on considère le test d'immunofluorescence indirecte,
- en cas de splénectomie, qui provoque une chute importante de l'immunité, des parasites circulants réapparaissent. Le cheval est donc resté porteur chronique,

même si dans la figure 5 les anticorps ne sont pas détectés par l'épreuve de fixation du complément entre le 90^{ème} et le 200^{ème} jour (jour de la splénectomie). En fait, pour ce test, le seuil de détection des anticorps est trop élevé, la méthode n'est donc pas assez sensible.

Il a donc été nécessaire d'accorder une grande importance au choix du test diagnostique lors notre étude épidémiologique.

Ce sont ces tests que nous allons aborder maintenant.

1.4 CONSEQUENCES POUR LE CHOIX DU DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL

Le choix de la méthode de diagnostic expérimental est orienté par les circonstances de sa réalisation :

- est-on en phase aiguë ou chronique de la maladie ? On recherchera dans le premier cas plutôt les parasites, dans le second les anticorps,
- souhaite-t-on réaliser un test extrêmement sensible et/ou extrêmement spécifique, sans tenir compte du coût et de la durée d'exécution ? Un tel test peut être demandé au coup par coup pour connaître le statut d'un cheval particulier vis à vis de la babésiose, il n'est pas envisageable sur de gros effectifs lors d'études épidémiologiques,
- de combien de temps dispose-t-on pour réaliser le diagnostic ? Un diagnostic rapide peut être nécessaire en phase aiguë afin de mettre en place au plus vite un traitement spécifique,
- pour quelles raisons le dépistage est-il réalisé ? Si le cheval est testé dans le but de pouvoir voyager dans un pays indemne, la réglementation spécifique de ce pays impose le test à utiliser.

Pour toutes ces raisons, de nombreuses méthodes de dépistage ont été utilisées ces dernières décennies. Nous présenterons ici chacune de ces méthodes en insistant sur leurs avantages et leurs inconvénients.

1.4.1 DIAGNOSTIC DIRECT

1.4.1.1 ETALEMENT ET COLORATION SUR LAME

L'observation au microscope de frottis sanguins colorés au May Grunwald Giemsa permet de visualiser les parasites au sein des hématies (47).

Ce test est facile et rapide à réaliser, bon marché, mais l'observation des parasites est difficile même en phase aiguë où la parasitémie reste faible (seulement 0,1 à 1% des hématies sont infectées pour *B. caballi*). De plus la période pendant laquelle on peut visualiser ces parasites est très courte, 2 à 3 jours seulement (65). Ce test ne peut donc pas être utilisé pour un dépistage de portage chronique (25).

1.4.1.2 IMMUNOFLOUORESCENCE DIRECTE (IFD)

Ce test consiste à déposer sur un frottis une solution d'anticorps anti-babesia marqués avec de l'isothiocyanate de fluorescéine et d'observer la lame au microscope en lumière fluorescente ultraviolette.

On peut alors mettre en évidence les babesi mais comme pour le test précédent, l'IFD ne peut être utilisée que lors de formes aiguës de babésiose, au moment où la parasitémie est la plus élevée (56).

1.4.1.3 SONDES A ADN (53)

La recherche de fragments d'ADN de *B. caballi* et *B. equi* est possible grâce à des sondes à ADN spécifiques de chaque parasite. Pour cela, on extrait de l'ADN parasitaire d'un échantillon de sang et on le dépose sur une membrane en nylon. On l'examine ensuite en présence de la sonde à ADN radio-marqué.

On peut ainsi déceler une positivité sur des chevaux présentant une parasitémie de 0,06% pour *B. caballi* et 0,0025% pour *B. equi* (11). Cette sensibilité est donc meilleure que pour les deux tests précédents mais ce dépistage reste insuffisant pour mettre en évidence des porteurs latents et n'a pas été développé en routine. Pour détecter des porteurs chroniques, sa sensibilité peut être augmentée par l'utilisation de la PCR, méthode d'amplification en chaîne par une polymérase. Cette méthode permet de déceler une parasitémie de 0,000083% pour *B. equi*, le seuil de détection pour *B. caballi* n'a pas encore été déterminé (5) (50).

1.4.2 DIAGNOSTIC INDIRECT

Du fait de l'existence d'une immunité de prémunition, un résultat positif en anticorps lors d'un dépistage sérologique indique que le cheval est porteur de babesi et est donc une source potentielle indirecte de parasite.

1.4.2.1 FIXATION DU COMPLEMENT (FC) (42) (72) (31) (24)

Ce test est le test sérologique le plus ancien. Le principe est le suivant : on met en contact le sérum à tester avec un antigène préparé à partir d'hématies de chevaux parasitées, lysées puis centrifugées. En cas de présence d'anticorps anti-babesia, il se produit une utilisation des facteurs du complément. On dose ensuite le complément restant par une réaction antigène-anticorps connue. S'il reste des facteurs du complément, c'est que le sérum à tester était négatif alors que s'il n'y a plus de facteurs du complément, c'est qu'ils ont été consommés lors de la première réaction et donc que le cheval testé était positif.

Développé en 1945, il constitue la méthode officielle utilisée par le département de l'Agriculture des Etats pour le dépistage des babésioses équine. C'est ce test que tous les pays ont accepté comme test de référence pour le contrôle des chevaux destinés à être importés dans les pays où la maladie n'existe pas mais où des vecteurs peuvent être présents.

Il permet le plus souvent un diagnostic différentiel entre *B. caballi* et *B. equi* mais des réactions croisées ont déjà été mises en évidence (11).

Ce test est simple et peu coûteux mais il présente des limites : il ne dépiste pas tous les chevaux positifs d'une part (présence de faux négatifs) et d'autre part, certains sérums à activité anti-complémentaire (présentant des immuns-complexes circulants) ne peuvent pas être évalués.

1.4.2.2 PRECIPITATION EN GELOSE (57)

En déposant dans une boîte de pétri d'un côté le sérum à tester et de l'autre un antigène approprié, on obtient en cas de réaction positive un précipité d'immun-complexes lors de la diffusion des deux substrats dans la gélose.

Ce test est sensible, ce qui permet de détecter des infections latentes, spécifique, peu onéreux et simple à réaliser, mais il nécessite de conserver les prélèvements pendant 48 heures

avant de les interpréter. Il n'a donc pas été retenu comme test de référence en raison de sa durée d'exécution.

1.4.2.3 IMMUNOFLOURESCENCE INDIRECTE (42) (72) (13) (56)

Des antigènes babésiens spécifiques de *B. caballi* ou de *B. equi* sont tout d'abord fixés sur une lame. On met ensuite cette lame en contact avec le sérum à tester. S'il contient des anticorps anti-babesia, ces derniers vont se fixer sur la lame. Il suffit ensuite de passer la lame dans une solution d'anticorps anti-anticorps de cheval marqués avec de l'isothiocyanate de fluorescéine et d'observer la lame au microscope en lumière fluorescente ultraviolette.

Cette méthode permet le diagnostic différentiel entre *B. caballi* et *B. equi* et est beaucoup plus sensible que le test de fixation du complément pour détecter les chevaux porteurs chroniques et tester la réponse aux traitements. Cependant, si l'interprétation d'une réponse fortement positive est simple, la distinction entre une réaction négative et une réaction faiblement positive est délicate et nécessite une grande expérience. De plus, la lecture des résultats demande du temps et la méthode est difficile à standardiser. Ce test n'a donc pas été proposé pour remplacer celui de fixation du complément mais comme test complémentaire, par exemple pour des chevaux ayant subi des traitements médicaux piroplasmicides pour lesquels le test de FC n'est pas assez sensible, ou pour des sérums pour lesquels il existe des réactions anti-complémentaires.

1.4.2.4 ENZYME-LINKED IMMUNOSORBANT ASSAY (ELISA) (7) (41) (67) (72)

On utilise pour ce test un antigène de babesia que l'on fixe sur une lame. On met en contact cette lame avec le sérum à tester. S'il contient des anticorps, ces derniers vont se fixer sur les antigènes de la lame. On trempe alors la lame dans un bain contenant des anticorps anti-anticorps marqués à la peroxydase. Pour finir, on plonge la lame dans un bain de substrat coloré. Dans le cas où le sérum à tester contient des anticorps anti-babesia, il se produit une décoloration du substrat par la peroxydase, ce qui signe une réaction positive.

Cette méthode est beaucoup plus sensible que la FC mais jusqu'alors, lorsqu'on utilisait ce test, il se produisait des réactions croisées entre *B. caballi* et *B. equi*. Ce manque de spécificité semble avoir été partiellement comblé par un test ELISA d'inhibition compétitive qui, grâce à un anticorps monoclonal (10) serait spécifique de *B. equi* (39).

1.4.2.5 WESTERN BLOT (6) (7) (8)

Ce test d'immunodétection sur bandelette est basé sur l'analyse des protéines des babesi. On peut ainsi différencier les espèces de parasites car les protéines antigéniques n'ont pas le même poids moléculaire et ne diffusent donc pas à la même distance sur la bandelette.

Il paraît le plus spécifique des tests disponibles aujourd'hui. On le conseille donc à l'heure actuelle comme test complémentaire pour l'identification de l'espèce impliquée.

Peyman et Böse (7) recommandent alors de combiner un ELISA et un WESTERN BLOT pour détecter les chevaux porteurs chroniques et déterminer l'espèce de babesia impliquée.

Quoi qu'il en soit, comme on vient de le voir, il n'existe pas à l'heure actuelle de test « parfait » alliant sensibilité, spécificité, simplicité, rapidité d'exécution et faible coût.

Dans toutes les études épidémiologiques récentes, le test retenu en majorité est l'immunofluorescence indirecte (29) (55) (3), parfois associée au Western Blot (52) ou à l'ELISA (60). La méthode de fixation du complément (37) et l'ELISA (30) sont aussi utilisés seuls mais dans de moindres proportions.

C'est grâce à la connaissance des parasites, de leur cycle de développement, de leur mode de transmission et de l'épidémiologie théorique de la maladie qu'il nous a été possible d'établir un protocole d'étude permettant de mettre en évidence les facteurs de risque de la babésiose en Camargue et d'interpréter les résultats de la prévalence obtenue. L'étude réalisée est présentée ci-dessous.

2 MATERIEL ET METHODE

L'étude de la prévalence et des facteurs de risque de la babésiose en Camargue durant l'automne et l'hiver 2001/2002 faisait partie d'une étude plus vaste ayant plusieurs objectifs :

- le premier devait déterminer si le virus West Nile (provoquant une encéphalite parfois mortelle) ayant entraîné une épidémie chez les chevaux en 2000 s'était installé à l'état endémique en Camargue en 2001,
- le second était de connaître un peu mieux les chevaux vivant en Camargue, leur mode de vie, leur activité, etc. car aucune étude jusque-là n'avait décrit cette population particulière,
- le troisième avait pour but d'apprécier la prévalence de la babésiose, l'ehrlichiose et la borréliose dans cette région et les facteurs de risque leur correspondant.

Nous nous intéresserons ici à l'étude de la population des chevaux en Camargue et à l'une des maladies citées plus haut : la babésiose, l'étude des autres affections faisant l'objet d'autres travaux.

Pour mettre en place une telle étude, nous avons tout d'abord choisi un effectif de chevaux, puis préparé un questionnaire dont les réponses devaient permettre de décrire l'échantillon de chevaux prélevés. Nous avons ensuite réalisé puis traité les prélèvements et enfin analysé les résultats obtenus.

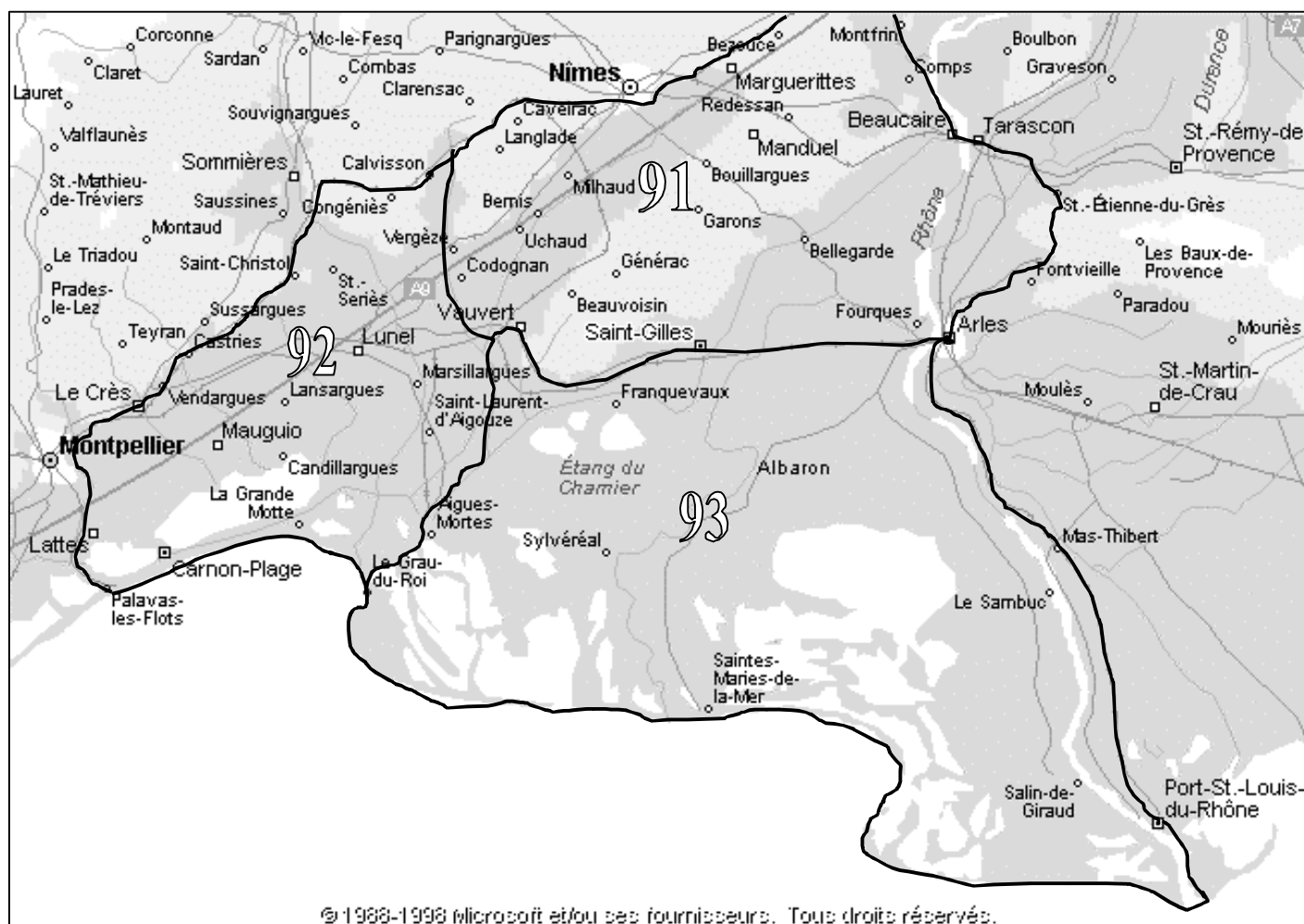
2.1 CHOIX DE L'ECHANTILLON DE CHEVAUX

2.1.1 ZONES GEOGRAPHIQUES RETENUES

Afin de pouvoir répondre à tous les objectifs fixés, des contraintes spatiales se sont imposées. En effet, l'épidémie de West Nile de 2000 s'était surtout développée au nord est de Montpellier. Il a donc été nécessaire d'intégrer cette zone dans la zone d'étude. De plus, comme le biotope des vecteurs et des réservoirs du virus West Nile s'étendait sur toute la Camargue, c'est sur toute cette zone que devaient porter les recherches.

Les vecteurs de ce virus sont en effet des moustiques, et le réservoir les oiseaux. Les zones marécageuses, humides, dans lesquelles évoluent quantité d'oiseaux dont tous les oiseaux migrateurs nous ont alors paru susceptibles d'héberger des chevaux porteurs du virus.

La zone géographique retenue a donc été délimitée à l'ouest par Mauguio, Aigue-Vive et Baillargues, au nord par Tarascon et Beaucaire, à l'est par Saint-Martin-de-Crau et Port-Saint-Louis et au sud par la mer. Pour des raisons qui seront présentées plus loin, un découpage en trois sous-parties (91,92 et 93) a été réalisé (cf carte 1).



Carte 1 : zones géographiques retenues

2.1.2 TYPE DE CHEVAUX RECHERCHES

La population cible était l'ensemble des chevaux résidant dans la zone décrite ci-dessus.

Pour être inclus dans l'échantillon, les chevaux devaient être nés et élevés dans cette zone. Ils devaient y vivre toute l'année, ou tout au moins y avoir résidé depuis au moins deux ans.

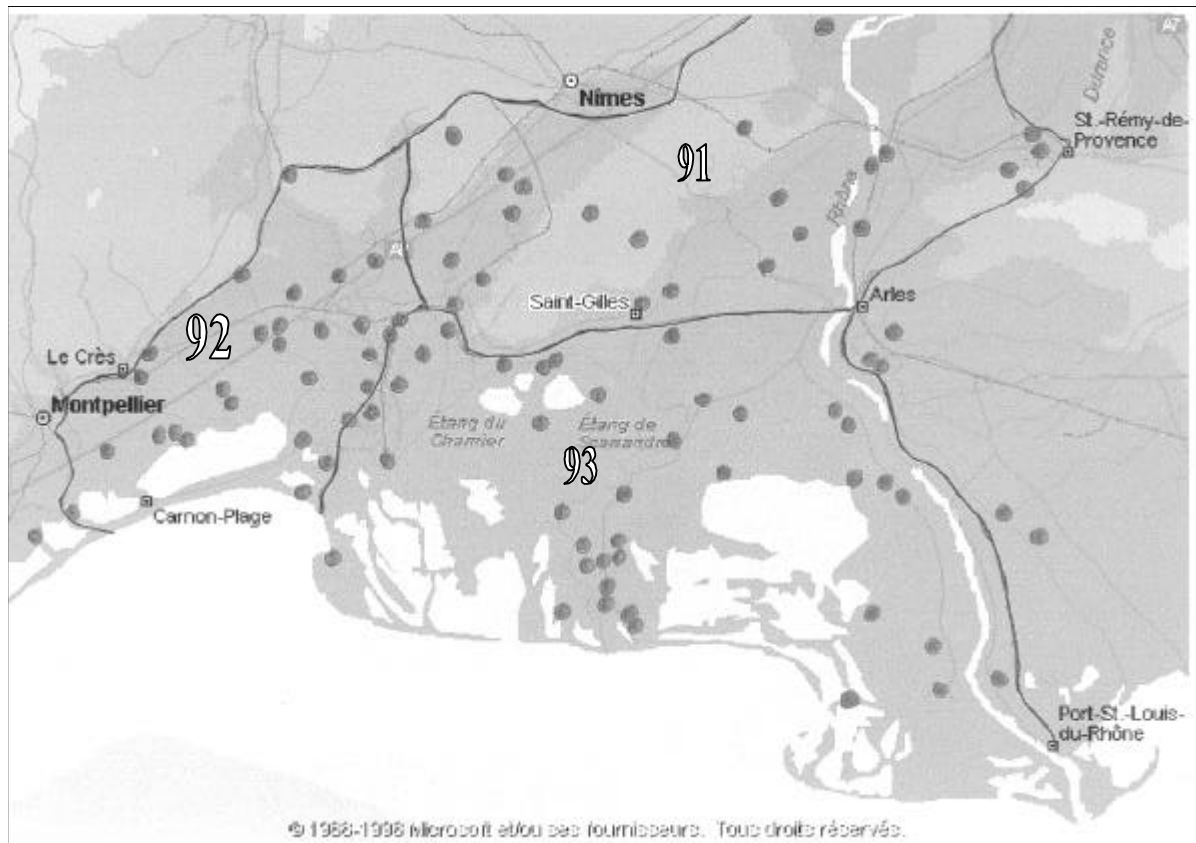
Dans l'optique de dépister un maximum de chevaux positifs en sérologie West Nile, les chevaux devaient passer trois à six mois de l'année en zone humide, période comprenant l'été, et rester dans la zone d'étude pendant la période à risque vis-à-vis de l'infection par le virus West Nile, c'est à dire de mars à novembre. Une zone humide avait été définie comme un secteur situé à moins de 500 mètres d'un étang, d'une mare ou d'un marais.

2.1.3 ECURIES RETENUES

Nous souhaitions une représentation homogène du nombre de chevaux sur toute la zone d'étude. Or, nous n'avions aucune idée de la localisation précise ni du nombre de chevaux présents en Camargue. Il a donc été demandé aux 17 cliniques vétérinaires de la région qui ont acceptées de se joindre à l'étude (annexe 1 p 68), de cartographier les écuries susceptibles de participer, le terme écurie désignant ici tout regroupement de chevaux, que ce soit une manade, un centre équestre, une promenade, un particulier, etc. Ces écuries devaient, d'après les vétérinaires, pouvoir être incluses dans nos critères de sélection. Ils devaient alors préciser le nombre de chevaux présents dans chacune d'elles.

Une fois ces données recueillies, nous nous sommes rendu compte que nous arriverions à couvrir toute la zone d'étude, les écuries semblant relativement bien réparties, ce dont nous n'étions pas convaincus a priori.

De nombreux découpages de la zone en sous-parties ont alors permis de définir le nombre de chevaux que nous souhaitions pour chacune d'elles. Nous avons ensuite choisi de manière aléatoire les écuries dans chaque sous-partie. La carte 2 présente les localisations retenues.



Carte 2 : localisation des écuries retenues

Restait à définir le nombre de chevaux à prélever dans chaque écurie. Ce nombre a été défini comme suit : Soit n le nombre total de chevaux présents dans une écurie, x le nombre de chevaux à prélever :

- si n inférieur à 5, $x = n$,
- si n compris entre 5 et 20, $x = 5$,

- si n supérieur à 20, $x = 15$.

Au sein d'une même écurie, les chevaux prélevés devaient être représentatifs de l'effectif de chevaux présents dans cette écurie.

Au cours d'une réunion d'information, dont le compte rendu est fourni en annexe 2 page 69, toutes ces modalités ont été discutées et approuvées par les vétérinaires participant. Elles ont ensuite été rappelées dans un guide de procédure (annexe 3 p 72) fourni à chacun d'eux au moment de commencer les prélèvements.

Il nous restait alors à définir ce que nous souhaitions connaître des chevaux, ce qui nous permettrait de définir les facteurs de risque pour les différentes maladies recherchées : West Nile, babésiose, ehrlichiose et borreliose. Pour cela, deux questionnaires ont été mis au point : un « questionnaire cheval » (annexe 4 p 73) et un « questionnaire écurie » (annexe 5 p 76).

2.2 REALISATION ET COLLECTE DES DONNEES DES QUESTIONNAIRES

2.2.1 CONSERVATION DE L'ANONYMAT

Afin de regrouper un nombre suffisant d'écuries susceptibles de participer à l'étude, les vétérinaires de terrain nous ont conseillé de conserver l'anonymat des chevaux prélevés car les éleveurs ne souhaitaient pas toujours que chacun puisse avoir accès au statut sérologique de leurs chevaux.

L'anonymat strict ainsi que la confidentialité des résultats ont donc été assurés.

Pour cela, un code a été attribué à chaque cheval. Trois nombres de deux chiffres le définissaient. Le premier correspondait au vétérinaire prélevant, le second à l'écurie dans laquelle le cheval résidait et le troisième au cheval lui-même.

Ces seuls numéros ont ensuite été apposés sur les tubes à prélèvement et sur les questionnaires au moment de la réalisation des prises de sang.

2.2.2 REALISATION DES QUESTIONNAIRES

Afin de décrire la population de chevaux présents en Camargue et d'établir les facteurs de risque des maladies recherchées, deux questionnaires ont été mis au point :

- le premier, « Questionnaire cheval » concerne des données épidémiologiques individuelles sur le cheval lui-même. Il a été rempli au moment de la réalisation des prises de sang,
- le second « Questionnaire environnement » reprend des données épidémiologiques collectives sur les écuries dans lesquelles étaient réalisés les prélèvements. Il a été complété au cours d'un entretien avec chaque propriétaire d'écurie dans les mois qui suivaient les prélèvements.

Ces questionnaires ont été rédigés par Marie Aude Heng et moi-même à l'aide de la bibliographie des différentes maladies et des avis des vétérinaires participant à l'étude. Ils ont ensuite été corrigés par Agnès Leblond, Maître de Conférence de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, et par les membres du comité scientifique du DEA « Méthode de recherche en environnement et santé » suivi par Marie Aude Heng.

2.2.2.1 QUESTIONNAIRE CHEVAL (ANNEXE 4)

Il regroupe les informations suivantes :

- les caractéristiques physiques du cheval : race, sexe, âge, couleur de la peau, couleur de la robe,
- les caractéristiques sanitaires globales : protection contre les insectes, état général, vaccination, vermifugation, maladies récentes durant les années 2000 et 2001,
- son habitat : localisation, logement principal le jour, logement principal la nuit, temps moyen passé en zone humide,
- son activité principale : activité principale de mars à novembre, réalisation ou non de déplacements durant cette période, et si oui leur localisation, leur durée et leur but,
- ses antécédents relatifs à l'épidémie de West Nile de 2000 : a-t-il été testé ? Si oui, quel résultat a été obtenu ? Le cheval a-t-il présenté des symptômes nerveux durant les années 2000 et 2001 ?

2.2.2.2 QUESTIONNAIRE ENVIRONNEMENT (ANNEXE 5)

On a cherché à connaître ici les données suivantes :

- la localisation géographique précise par GPS, les données relevées étant la localisation des chevaux pendant les mois de mars à novembre,
- les équidés présents : nombre de chevaux, de poneys, d'ânes, leur distance par rapport aux habitations humaines, leur type de logement,
- le nombre de personnes soignant les chevaux et fréquentant l'écurie,
- les antécédents sanitaires de l'écurie : la réalisation ou non de sérologie West Nile en 2000 et les résultats obtenus, l'existence ou non de différents signes cliniques évocateurs des maladies recherchées (appréhension, ataxie, apathie, difficulté à tenir debout, paralysie des membres, parésie, hyperthermie, ictère, œdème des membres, diarrhée, coliques, anémies, broncho-pneumonie, fourbure, avortement),
- les autres animaux domestiques à proximité des chevaux : présence de vaches, moutons, chèvres, porcs, canards, poules ; leur nombre, leur type de logement, intérieur ou extérieur, leur distance par rapport aux chevaux,
- les oiseaux sauvages logeant à proximité des écuries,
- la lutte contre les moustiques : protection des ouvertures, lutte chimique ou mécanique sur les chevaux,
- la description de l'écologie locale : nombres d'hectares à disposition des chevaux, description de la végétation en pourcentage de la végétation totale de l'écosystème

présent dans un rayon de 500 mètres autour des chevaux, description des diverses sources d'eau autour des chevaux, présence ou non de fosses septiques à proximité, réalisation ou non d'un vide sanitaire.

2.2.3 COLLECTE DES DONNEES ET UTILISATION STATISTIQUE

Afin de présenter clairement aux propriétaires des chevaux prélevés le but de l'étude, une fiche d'information (annexe 6 p 80) leur a été fournie au moment de la réalisation des prélèvements. Nous leur avons aussi demandé de remplir une fiche de consentement éclairé (annexe 7 p 82) afin que nous puissions par la suite exploiter les éléments fournis en toute légalité.

2.2.3.1 LES QUESTIONNAIRES

Le questionnaire cheval devait être assez court pour permettre au vétérinaire de le compléter au moment des prélèvements.

La collecte des données du questionnaire environnement demandait beaucoup plus de temps. Les vétérinaires praticiens qui participaient à l'étude n'ont donc pas pu remplir ce document en même temps que l'autre. Marie Aude Heng s'en est chargée en fonction de la disponibilité des propriétaires.

Les données ainsi collectées ont été retranscrites dans un tableau Microsoft Excel, une demande d'autorisation ayant été déposée au CNIL (Centre National Informatique et Liberté) auparavant, puis exportées vers le logiciel Statview Acabus conceptND afin être analysées.

2.2.3.2 ANALYSE STATISTIQUE

Afin de réaliser une analyse statistique cohérente, certaines données ont du être regroupées, ce qui permettait de disposer d'un nombre suffisant de réponses pour que le test statistique utilisé soit significatif.

Les données utilisées pour l'analyse ont été finalement présentées comme suit :

- trois zones précisées sur la carte 1 ont été définies pour analyser les données de localisation des chevaux. La première, zone 91, correspondait à la zone d'épidémie de West Nile de 1962. La seconde, zone 92, représentait la zone d'épidémie de West Nile de 2000. Ces deux zones constituaient des territoires relativement secs en comparaison avec la zone 93 correspondant à la zone humide,
- pour l'analyse des données continues comme l'âge et le délai d'acquisition, on a défini des classes. Ainsi, pour l'âge, cinq classes ont été utilisées : de 0 à 4 ans, de 5 à 9, de 10 à 14, de 15 à 19 et de 20 ans et plus. Pour le délai d'acquisition, on a regroupé les chevaux en classe de 0 à 4 ans, 5 à 9 et 10 ans et plus,
- pour l'activité principale des chevaux, quatre catégories ont été retenues : les chevaux utilisés pour le « travail des taureaux », les chevaux « de loisir, promenade, et repos », les chevaux « de compétition et de centre équestre » et les chevaux « d'élevage »,

- le trop faible nombre de données concernant le type de lutte contre les insectes le jour et la nuit, le lieu et le nombre de jours de déplacement n'a pas permis de les utiliser pour décrire la population et les facteurs de risque de la babésiose.

Pour ce qui est du questionnaire environnement, des regroupements supplémentaires ont été réalisés :

- le nombre d'hectares laissé à disposition des chevaux a donné lieu à trois catégories : 0 ha, entre 0 et 10 et plus de 10 ha,
- pour la végétation, on a groupé en 0%, entre 0 à 30%, et plus de 30%,
- l'existence de symptômes neurologiques en 2000 et 2001 a été redéfini en présence ou absence de symptômes nerveux,
- les marais, les rizières et les prairies humides ont été associés et nommés « eau associée à des végétaux »,
- en ce qui concerne les bovins, on a défini trois catégories de distance : 0, moins de 500m et plus de 500m ; trois catégories d'effectifs : 0, entre 1 et 60 et plus de 60 bovins ; et trois catégories de logement pour ces bovins : intérieur, extérieur et mixte. Il en a été de même pour les moutons et les chevaux d'écuries voisines. Par contre pour les autres mammifères et pour les oiseaux, on a regroupé en deux catégories : présence et absence,
- là aussi, certaines données ont été abandonnées du fait d'un trop faible nombre de réponses : n'ont pas pu être exploités la distance homme/cheval, le logement d'hiver, le second logement d'été, le nombre de chevaux dans les différents logements, l'existence ou non d'une lutte mécanique contre les moustiques et la nature de la lutte chimique.

C'est seulement après avoir réalisé ces groupements que l'analyse statistique proprement dite a pu commencer. Les résultats seront présentés plus loin.

2.3 REALISATION ET TRAITEMENT DES PRELEVEMENTS

2.3.1 CHOIX DE LA PERIODE DE PRELEVEMENT

La babésiose, la maladie de West Nile, l'ehrlichiose et la borréliose sont toutes des maladies transmises par un insecte vecteur dont la période d'activité se situe au printemps et à l'automne.

Comme la période de transmission de ces maladies est intimement liée à la période d'activité des vecteurs et que pour l'étude West Nile, nous souhaitons connaître si des séro-conversions s'étaient produites au cours de l'année 2001, il fallait choisir une période de prélèvement se situant après que les dernières contaminations aient pu se produire. Les prélèvements furent donc réalisés entre le 2 novembre 2001 et le 19 février 2002, période théorique d'inactivité des vecteurs.

2.3.2 TRAITEMENT DES PRELEVEMENTS DEPUIS LA PRISE DE SANG JUSQU'AU LABORATOIRE D'ANALYSE

Pour réaliser toutes les sérologies, ainsi que les recherches directes par PCR de certains agents infectieux (babesia, ehrlichia et borrelia), deux tubes secs et un tube EDTA ont été prélevés.

Ce sont les vétérinaires ayant accepté de participer à l'étude, que j'ai parfois accompagnés, qui ont réalisé les prises de sang, les ont récupérées et réfrigérées.

Deux fois par semaine, je passais chercher les prélèvements, centrifugeais les tubes secs (10 minutes à 5000 tours/min) et séparais le surnageant. Le sérum ainsi obtenu était placé dans deux autres tubes secs.

Au final, il restait donc un tube EDTA contenant du sang et deux tubes secs contenant du sérum. Ces tubes étaient identifiés par le numéro à six chiffres précédemment défini. Un tube sec et le tube EDTA étaient congelés pour des analyses ultérieures, le troisième était envoyé en chronopost au laboratoire d'études et de recherches en pathologie animale et zoonoses de l'AFSSA (Agence Française pour la Sécurité Sanitaire des Aliments) à Maisons-Alfort à l'attention de Stéphane Zientara qui était chargé d'effectuer les sérologies West Nile ; Pascal Boireau, chercheur du même laboratoire, devait quant à lui s'occuper des sérologies babésiose.

2.3.3 METHODE DE DEPISTAGE EXPERIMENTAL

Au laboratoire, c'est la méthode de dépistage par fixation du complément qui a été utilisée. Une dilution au $1/5^{\text{ème}}$ a été réalisée et les résultats ont été regroupés en six classes : absence d'anticorps, traces, +, ++, +++, +++++. Restait à déterminer le seuil (traces, +, ++, +++, +++++) à partir duquel on considérerait la réaction comme mettant en évidence un cheval effectivement positif. Plusieurs éléments de réponse nous ont permis de trancher.

Tenter et Friedhoff tout d'abord, comparent dans une de leurs études (70) les réactions de fixation du complément (FC) et immunofluorescence indirecte (IFI) sur le sérum de 3765 chevaux. Il ressort de cette étude que tous les sérums présentant au moins une croix en fixation du complément sont aussi positifs par IFI, et que sur les 31 sérums ayant été classés dans le groupe « traces » pour *B. equi* en FC, 26 sont positifs en IFI, et sur les 32 sérums regroupés dans « traces » pour *B. caballi* en FC, 11 sont positifs en IFI.

Ensuite, on sait que le test de FC présente une très grande spécificité envers les babesi. Les faux positifs en FC étant très rares, les « traces » relevées dans certains sérums sont donc susceptibles de révéler effectivement la présence d'anticorps anti-babesia dans ces sérums.

Enfin, l'immunité de prémunition étant la seule immunité mise en place au cours d'une infection, la présence d'anticorps est liée à un portage chronique.

Les chevaux regroupés dans « traces » en FC sont donc réellement porteurs de babesi.

Ainsi, pour notre étude, les sérums présentant des traces d'anticorps, ou des réactions à +, ++, +++, +++++ ont été considérés comme positifs à *B. caballi* et/ou à *B. equi*.

Un problème persistait tout de même : à une dilution au $1/5^{\text{ème}}$, il pouvait exister une réaction croisée entre *B. equi* et *B. caballi* lorsque le sérum testé présentait +++++. En effet, en cas de très forte réaction à une babesia (A), on pouvait trouver une réaction faiblement positive pour la babesia (B), et ce malgré deux réactions de fixation du complément différentes pour (A)

et pour (B). Il aurait alors fallu effectuer des dilutions supplémentaires pour différencier les deux espèces de babesi, ce qui n'a pas été réalisé au cours de cette étude.

Ce sont ces résultats que nous allons aborder maintenant.

3 RESULTATS

Dans notre étude, 488 chevaux ont été prélevés dans 100 écuries différentes.

3.1 DESCRIPTION DE LA POPULATION DES CHEVAUX EN CAMARGUE

L'analyse descriptive a été réalisée avec le logiciel StatviewND Abacus. Des tests du Chi2, ou dans certains cas des tests de distribution exacte de Fisher ont été réalisés afin de déterminer si les différences observées entre les groupes étaient ou non significatives. Une valeur de p inférieure à 0,05 a été considérée comme significative, indicatrice d'une association potentielle entre deux facteurs.

3.1.1 CARACTERISATION DES CHEVAUX CAMARGUAIS

La population prépondérante en Camargue est représentée par des chevaux de race Camargue 50% (n=244/487), hongres 56% (n=272/485), âgés de 5 à 14 ans 60% (n=290/483). Ils sont nés pour la plupart dans la zone d'étude 65% (n=290/445), leur activité principale est pour 47% d'entre eux le loisir (n=232/487) et pour 24,2% le travail des taureaux (n=118/487). 60% (n=294/485) de ces chevaux passent plus de 75% du temps en zone humide et 81% (n=396/486) ne se déplacent pas. 92% (n=449/487) sont en bon état général, 94% (n=460/488) sont vermifugés régulièrement, 75% (n=367/487) ne sont pas traités contre les moustiques.

La description de la population a été réalisée en fonction de l'activité des chevaux, définie selon quatre modalités : travail des taureaux, club/compétition, élevage et loisir/repos/promenade.

Le travail des taureaux est fortement associé aux chevaux de race Camargue ($p < 0,0001$), mais également aux races près du sang (Pur-Sang, Autre-Que-Pur-Sang, Anglo-Arabe, Arabes) ($p = 0,0073$), dont la robe est différente des couleurs baie ($p < 0,0001$) et noire ($p = 0,017$), et la peau est claire ($p < 0,0001$). Le nombre de chevaux en mauvais état de santé est significativement plus faible que dans les autres types d'activités ($p = 0,0079$). Leur logement se situe dans la zone 93 ($p < 0,0001$), leur habitat de jour et de nuit est le marais ($p < 0,0001$ et $p = 0,0002$), et enfin le but de leur déplacement éventuel est le travail des taureaux.

Tableau 1 : caractérisation de la population des chevaux de Camargue (caractéristiques physiques et sanitaires)

Variable explicative		Travail taureaux		Club Compétition		Elevage		Loisir Repos		Toutes activités confondues	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Caractéristiques physiques											
Race %	Total	118		68		56		244		487	
Camargue		96**	81,4	8	11,8	20	35,7	119	48,8	244	50,1
Hispano, Portugais		4	3,4	26	38,2	23	41,1	51	20,9	104	21,4
Chevaux près du sang		8**	6,8	13	19,1	4	7,1	17	7,0	42	8,6
selle(SF, Poneys, Autres)		10	8,5	21	30,9	9 *	16,1	57	23,4	97	19,9
Sexe	Total	118		67		56		243		485	
Femelle		9	7,6	16	23,9	46**	82,1	52	21,4	123	25,4
Hongre		95	80,5	31	46,3	0	0	145	59,7	272	56,1
Entier		14	11,9	20	29,9	10	17,9	46	18,9	90	18,6
Age	Total	118		67		56		241		483	
[0 - 4[20	16,9	7	10,4	13	23,2	37	15,4	77	15,9
[5 - 9[54	45,8	28	41,8	18	32,1	66	27,4	167	34,6
[10 -14[25	21,2	25	37,3	14	25,0	59	24,5	123	25,5
[15 -19[14	11,9	5	7,5	8	14,3	42**	17,4	69	14,3
>20		5	4,2	2	3,0	3	5,4	37**	15,4	47	9,7
Peau	Total	114		67		56		245		483	
Sombre		53	46,5	49	73,1	37	66,1	208	84,9	347	71,8
Claire		61**	53,5	18	26,9	19	33,9	37	15,1	136	28,2
Robe	Total	118		68		56		244		487	
Gris		97	82,2	32	47,1	34	60,7	158	64,8	322	66,1
Alezan		12	10,2	12**	17,6	9	16,1	21	8,6	54	11,1
Bai		6**	5,1	18	26,5	12	21,4	39	16,0	75	15,4
Noir		0	0,0	1	1,5	1	1,8	11	4,5	13	2,7
Autre		3	2,5	5*	7,4	0	0,0	15	6,1	23	4,7
Caractéristiques sanitaires											
lutte contre moustiques	Total	118		68		55		245		487	
Non		95	80,5	40	58,8	41	74,5	191	78,0	367	75,4
Oui		23	19,5	28**	41,2	14	25,5	54	22,0	120	24,6
Etat général	Total	118		68		56		244		487	
Bon		116	98,3	65	95,6	51	91,1	216	88,5	449	92,2
Moyen / Mauvais		2**	1,7	3	4,4	5	8,9	28	11,5	38	7,8
Vaccination	Total	117		68		56		244		486	
Non		55	47,0	4**	5,9	20	35,7	97	39,8	177	36,4
Oui		62	53,0	64	94,1	36	64,3	147	60,2	309	63,6
Vermifugation	Total	118		68		56		244		487	
Non		11	9,3	68	100,0	3	5,4	17	7,0	31	6,4
Oui		107	90,7	0	0,0	53	94,6	227	93,0	456	93,6
Maladies récente	Total	118		68		56		245		488	
Non		112	94,9	66	97,1	51	91,1	230	93,9	460	94,3
Oui		6	5,1	2	2,9	5	8,9	15	6,1	28	5,7

* signifie une association significative avec p<0.05.

** signifie une association significative avec p<0.01.

La compétition et l'activité de type club sont associées à des chevaux de couleur baie et autre (p= 0,0037et p=0,037), nés en France hors de la zone d'étude (p=0,0006) ou à l'étranger (p<0,0001), avec une lutte contre les moustiques (p=0,0009) et une vaccination régulière ; le jour, les chevaux sont logés ailleurs qu'au pré (p<0,0001) et la nuit ils sont en box (p<0,0001) ou en paddock avec ou sans abri (p<0,0001) ; la part de temps que passent ces chevaux en zone humide est inférieure à 25% (p<0,0001), et enfin leur activité est associée à la réalisation de déplacements (p<0,0001), dans la zone (p=0,0001) et en dehors (p<0,0001), dans le but de faire de la compétition (p<0,0001).

Tableau 2 : caractérisation de la population des chevaux de Camargue (caractéristiques de l'habitat, historique)

Variable explicative	Travail taureaux		Club Compétition		Loisir Repos		Elevage		Toutes activités confondues	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Caractéristiques de l'habitat										
Localisation	Total	118	68		56		245		488	
91	22	18,6	30	44,1	21	37,5	73	29,8	146	29,9
92	10	8,5	23	33,8	3 **	5,4	82	33,5	119	24,4
93	86**	72,9	15	22,1	32	57,1	90	36,7	223	45,7
Logement jour	Total	118	68		56		245		488	
Box	4	3,4	21	30,9	3	5,4	28	11,4	56	11,5
Paddock +/- Abris, box	19	16,1	37	54,4	7	12,5	101	41,2	164	33,6
Pré +/- Abris	57	48,3	9**	13,2	33	58,9	96	39,2	196	40,2
Marais	38**	32,2	1	1,5	13	23,2	20	8,2	72	14,8
Logement nuit	Total	118	68		56		242		485	
Box	12	10,2	41**	60,3	9	16,1	65	26,9	127	26,2
Paddock +/- Abris, box	13	11,0	22**	32,4	5	8,9	58	24,0	98	20,2
Pré +/- Abris	55	46,6	4	5,9	29	51,8	102	42,1	191	39,4
Marais	38**	32,2	1	1,5	13	23,2	17	7,0	69	14,2
Temps passé zone humide	Total	118	68		55		243		485	
<25	23	19,5	31**	45,6	14*	25,5	62	25,5	130	26,8
[25-75[22	18,6	9	13,2	12	21,8	18**	7,4	61	12,6
>75	73	61,9	28	41,2	29	52,7	163	67,1	294	60,6
Déplacement	Total	118	68		56		245		486	
Non	87	73,7	16**	23,5	45	80,4	222	90,6	396	81,5
Oui	31	26,3	52	76,5	11	19,6	23	9,4	90	18,5
Lieu déplacement	Total	29	30		9		23		90	
Dans zone	26	89,7	30**	100,0	9	100,0	22	95,7	76	84,4
Hors zone	3	10,3	0**	0,0	0	0,0	1	4,3	14	15,6
But déplacement	Total	29	29		5		24		87	
Travail	12**	41,4	0	0,0	1	20,0	3	12,5	15	17,2
Loisir	3	10,3	0	0,0	0	0,0	8	33,3	11	12,6
Compétition	4	13,8	25**	86,2	0	0,0	0	0,0	30	34,5
Féria	7	24,1	2	6,9	0	0,0	9	37,5	19	21,8
Reproduction	0	0,0	2	6,9	3**	60,0	0	0,0	5	5,7
Autres	3	10,3	0	0,0	1	20,0	4	16,7	7	8,0
Historique										
Lieu de naissance	Total	117	67		54		206		446	
Zone étude	98	83,8	26	38,8	39	72,2	126	61,2	290	65,0
France hors zone	17	14,5	21**	31,3	11	20,4	51	24,8	100	22,4
Etranger	2	1,7	20**	29,9	4	7,4	29	14,1	56	12,6
Délai acquisition	Total	109	62		53		231		456	
0	6	5,5	9	14,5	2	3,8	13	5,6	30	6,6
1-4	34	31,2	28	45,2	19	35,8	70	30,3	151	33,1
5-9	39	35,8	13	21,0	19	35,8	80	34,6	152	33,3
10-19	25	22,9	11	17,7	11	20,8	53	22,9	100	21,9
>20	5	4,6	1	1,6	2	3,8	15	6,5	23	5,0

* signifie une association significative avec $p < 0,05$.

** signifie une association significative avec $p < 0,01$.

L'activité de type reproduction comporte plus de femelles ($p < 0,0001$). Cette activité concerne moins les chevaux de selle ($p = 0,025$) et est moins fréquente dans la localisation 92 ($p = 0,0008$). Le but des déplacements éventuels de ces chevaux est l'élevage ($p < 0,0001$).

L'activité de loisir, repos et promenade est associée à des chevaux âgés de 14 à 19 ans ($p = 0,0002$) et de plus de 20 ans ($p = 0,026$) qui passent 25 à 75% de leur temps en zone humide ($p = 0,0021$).

Les chevaux présentent également des caractéristiques spécifiques en fonction des sous-zones d'étude.

Ainsi la zone 93 (sud est), plus humide, est fortement associée ($p < 0,0001$) à la présence de chevaux de race Camargue (68%, $n = 151/222$), au travail des taureaux (68%, $n = 151/222$), et au logement des chevaux dans les marais (30%, $n = 67/223$). Dans cette zone, le temps passé en

zone humide supérieur à 25% est majoritaire (83,9%, n=187/223), et les chevaux sont peu vermifugés (9,7%, n=22/223), ce qui caractérise plutôt une gestion « extensive » des animaux.

La zone 92 (ouest) est associée à une lutte contre les moustiques importante sur les chevaux (42,9%, n=51/119), un faible nombre de chevaux non vaccinés contre la grippe ou le tétanos (17,8%, n=21/118) dont l'activité est différente de la reproduction (2,5%, n=3/119), et qui logent dans des paddocks secs avec abri (15,1%, n= 18/119), ($p<0,0001$).

Dans la zone 91 (nord est), on se trouve plutôt en présence d'entiers ($p<0,0001$, 28,3%, n=41/146), les chevaux sont en bon état général ($p=0,0026$, 85,6%, n=125/146), logés le jour et la nuit en box ($p<0,0001$, 23,3%, n=34/146, et 25,2%, n=26/143), et passent 25 à 75% de leur temps en zone humide. Leurs déplacements éventuels se font dans la zone d'étude ($p=0,02$, 79,4%, n=116/146).

Le lieu de naissance des chevaux est fortement associé à leur localisation ($p<0,0001$, n=420) : les chevaux camarguais vivent donc dans la région où ils sont nés.

3.1.2 CARACTERISATION DES « ECURIES » CAMARGUAISES

Les résultats sont présentés dans le tableau 3. Les écuries ayant participé à l'étude sont réparties de manière homogène :

- entre les différentes localisations : 29,3% (n=29/99) des écuries se trouvent dans la zone 91, 29,3% (n=29/99) dans la zone 92 et 41,4% (n=41/99) dans la zone 93,
- entre les différents types de gestion : « propriétaire », 56,1% (n=55/98) et « écurie », 43,8% (n=43/98),
- entre l'effectif et l'activité : travail des taureaux 22,2% (n=22/99), loisir-repos-promenade 31,3% (n=31/99), club-compétition 23,2% (n=23/99) et reproduction 23,2% (n=23/99).

Dans les écuries, le logement des chevaux varie au cours de l'année et les pâtures représentent le logement principal des chevaux (n=67/97). Près de la moitié des écuries sont traitées contre les moustiques (47,8%, n= 11/23) mais seulement 4% protègent les ouvertures des écuries avec des moustiquaires.

La description de ces écuries a ensuite été réalisée en fonction de l'activité de celles-ci.

Les établissements dont l'activité principale est la compétition ou le club ont significativement plus fréquemment une gestion de type « écurie au sens strict » (plus de deux personnes soignant les chevaux et fréquentant l'écurie) que « propriétaire » (deux personnes maximum) ($p=0,0002$) et un nombre de personnes fréquentant l'écurie supérieur à 25 ($p=0,0002$).

Les chevaux sont plus souvent logés en box ($p<0,0001$) et n'ont aucun espace extérieur à disposition ($p<0,0001$).

L'activité d'élevage est associée à une variation du logement des chevaux au cours de l'année ($p=0,013$) ce qui est en rapport avec un élevage extensif imposé pour la labellisation « Cheval Camargue » ; l'activité de loisir est associée à un nombre faible de chevaux dans l'effectif, ce qui caractérise plutôt des particuliers.

Tableau 3 : caractérisation des « écuries » camarguaises

Variable explicative		Travail taureaux		Loisir Repos Promenade		Club, CSO Dressage, Attelage		Elevage		Toutes activités confondues	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
CARACTERISTIQUES LOGISTIQUES											
Localisation	Total	22		31		23		23		99	
91		7	31,8	7	22,6	8	34,8	7	30,4	29	29,3
92		2	9,1	11	35,5	9	39,1	7	30,4	29	29,3
93		13	59,1	13	41,9	6	26,1	9	39,1	41	41,4
Gestion	Total	22		30		23		23		98	
Propriétaire		17	77,3	20	66,7	4	17,4	14	60,9	55	56,1
Ecurie		5	22,7	10	33,3	19	82,6	9	39,1	43	43,9
Fosse septique	Total	22		31		22		23		98	
Absence		4	18,2	2	6,5	1	4,5	3	13,0	10	10,2
Fermée		12	54,5	19	61,3	18	81,8	13	56,5	62	63,3
Ouverte		0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	13,0	3	3,1
Pas de maison		6	27,3	10	32,3	3	13,6	4	17,4	23	23,5
Vide sanitaire	Total	21		31		22		21		95	
Absence		12	57,1	18	58,1	12	54,5	9	42,9	51	53,7
Présence		3	14,3	8	25,8	4	18,2	7	33,3	22	23,2
Pas de maison		6	28,6	5	16,1	6	27,3	5	23,8	22	23,2
Personnel soignant	Total	18		30		17		22		87	
[0 ; 3[10	55,6	17	56,7	4	23,5	5	22,7	36	41,4
[3 ; 5[5	27,8	9	30,0	8	47,1	9	40,9	31	35,6
>=5		3	16,7	4	13,3	5	29,4	8	36,4	20	23,0
Personnel fréquentant	Total	17		25		19		20		81	
[0 ; 25[17	100,0	2	8,0	9	47,4	16	80,0	44	54,3
>=25		0	0,0	23	92,0	10	52,6	4	20,0	37	45,7
Superficie disponible	Total	20		31		22		23		96	
0		0	0,0	5	16,1	8	36,4	0	0,0	13	13,5
[1 ; 10[2	10,0	16	51,6	10	45,5	8	34,8	36	37,5
>=10		18	90,0	10	32,3	4	18,2	15	65,2	47	49,0
Nombre d'équidés	Total	22		31		23		23		99	
[0 ; 10[7	31,8	19	61,3	4	17,4	1	4,3	31	1,3
[10 ; 30[9	40,9	9	29,0	7	30,4	4	17,4	29	29,3
>=30		6	27,3	3	9,7	12	52,2	18	78,3	39	39,4
CARACTERISTIQUES LIEES AUX CHEVAUX											
Variation de logement	Total	20		28		21		22		91	
Non		15	75,0	26	92,9	19	90,5	13	59,1	73	80,2
Oui		5	25,0	2	7,1	2	9,5	9	40,9	18	19,8
Logement été jour	Total	22		30		23		22		97	
Box		1	4,5	0	0,0	13	56,5	1	4,5	15	15,5
Paddock +/- Abris +/- box		3	13,6	5	16,7	3	13,0	4	18,2	15	15,5
Pré +/- Abris/ Marais		18	81,8	25	83,3	7	30,4	17	77,3	67	69,1
Traitement contre moustiques	Total	22		31		23		23		99	
Non		16	72,7	15	48,4	8	34,8	12	52,2	51	51,5
Oui		6	27,3	16	51,6	15	65,2	11	47,8	48	48,5
Protection des ouvertures	Total	21		29		22		23		95	
Non		21	100,0	29	100,0	19	86,4	22	95,7	91	95,8
Oui		0	0,0	0	0,0	3	13,6	1	4,3	4	4,2
Déplacement	Total	22		31		23		23		99	
Non		14	63,6	23	74,2	15	65,2	13	56,5	65	65,7
Oui		8	36,4	8	25,8	8	34,8	10	43,5	34	34,3

* signifie une association significative avec p<0.05.

** signifie une association significative avec p<0.01.

3.1.3 CARACTERISATION DE L'ENVIRONNEMENT DES « ÉCURIES » CAMARGUAISES

Tableau 4 : caractérisation de l'environnement des « écuries » camarguaises (mammifères)

Variable explicative		91		92		93		Total	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Positivité écuries	Total	29		27		41		97	
	Négatif	24	82,8	17	63,0	31	75,6	72	74,2
	Positif	4	13,8	10	37,0	8	19,5	22	22,7
	douteux	1	3,4	0	0,0	2	4,9	3	3,1
	Total	29		29		40		98	
	Propriétaire	15	51,7	19	65,5	21	52,5	55	56,1
	Ecurie	14	48,3	10	34,5	19	47,5	43	43,9
	Total	29		29		41		99	
	Travail	7	24,1	2	6,9	13	31,7	22	22,2
	Loisir repos promenade	7	24,1	11	37,9	13	31,7	31	31,3
Activité principale	Club compétition	8	27,6	9	31,0	6	14,6	23	23,2
	Reproduction	7	24,1	7	24,1	9	22,0	23	23,2
MAMMIFERES									
Vaches									
Distance	Total	29		29		40		98	
	<500	1.3	44,8	5**	17,2	26	65,0	44	44,9
	>500	7	24,1	10	34,5	9	22,5	26	26,5
	non	9	31,0	14	48,3	5	12,5	28	28,6
Nombre	Total	29		28		36		93	
	0	8	27,6	14**	50,0	5	13,9	27	29,0
	[1-60[10	34,5	8	28,6	7*	19,4	25	26,9
	>60	1.1	37,9	6	21,4	24	66,7	41	44,1
Logement	Total	20		15		35		64	
	Extérieur	19	95,0	15	100,0	33	94,3	61	95,3
	Intérieur	0	0,0	0	0,0	1	2,9	1	1,6
	Mixte	1	5,0	0	0,0	1	2,9	2	3,1
Chevaux									
Distance	Total	17		20		24		61	
	<500	1.1	64,7	19	95,0	15	62,5	45	73,8
	>500	3	17,6	0	0,0	3	12,5	6	9,8
	Absence	3	17,6	1	5,0	6	25,0	10	16,4
Nombre	Total	16		18		18		51	
	0	3	18,8	1	5,6	6	33,3	10	19,6
	[1-10[5	31,3	7	38,9	4	22,2	16	31,4
	>10	8	50,0	10	55,6	8	44,4	25	49,0
logement	Total	14		19		21		54	
	Extérieur	8	57,1	18	94,7	20	95,2	46	85,2
	Intérieur	3**	21,4	0	0,0	0	0,0	3	5,6
	Mixte	3*	21,4	1	5,3	1	4,8	5	9,3
Mammifères									
logement	Total	24		22		36		82	
	Extérieur	12	50,0	15	68,2	25	69,4	52	63,4
	Intérieur	0	0,0	5**	22,7	1	2,8	6	7,3
	Mixte	12*	50,0	2	9,1	10	27,8	24	29,3

* signifie une association significative avec p<0.05.

** signifie une association significative avec p<0.01.

L'environnement des écuries faisant partie de l'étude a été envisagé à l'intérieur des trois zones précédemment définies ; celui-ci diffère nettement d'une zone à une autre (cf. Tableau 4).

Dans la zone 91, la plus à l'intérieur du territoire, les chevaux ont plutôt un logement intérieur (p=0,0097), les mammifères voisins étant logés dans des habitats mixtes (0,03). On constate aussi l'absence d'aigrette (p=0,004, n=28) et de pie (p=0,03, n=28), et la présence d'arbres (p=0,0007). 78,9% de cette zone (n=15/19) ne comporte pas de végétation associée à

un milieu humide, par contre 68% (n=20/29) présente des cultures et 65,5% (n=19/10) des roubines temporaires (canaux d'irrigation et d'évacuation des eaux pluviales). Ces dernières associations n'étaient pas statistiquement significatives.

La zone 92, plus urbanisée, est associée à la présence de bâtiments (p=0,0024) et à l'absence de vaches (0,0028), les mammifères voisins des chevaux ont un logement intérieur (0,0016). Bien que ces éléments soient non significatifs, cette région présente une densité de chevaux plus importante que les autres zones (distance avec les chevaux voisins inférieure à 500m, 95%, n=19/20), elle présente aussi moins de mares ou d'étangs (72,4%, n=21/29) et plus de haies et de vignes (62,1%, n=18/29).

La zone 93, qui inclut la réserve de Camargue, présente plus de mares et d'étangs (p=0,01), et héberge une végétation associée à un milieu humide (p<0,0001) et des roubines permanentes (p<0,0001). On y trouve plus de hérons (p=0,03) et de canards sauvages (p=0,0001) qu'ailleurs, et moins d'eau temporaire artificielle (p=0,0038) à proximité des écuries. Cette zone est également associée, bien que de manière non significative, à la présence de roubines permanentes (82,9% , n=34/41), de vaches et taureaux (65%, n=26/40) logés à l'extérieur (94,3%, n=33/35) et à l'absence de bâtiments (95,1%, n=39/41) et de piscines ou bassins (82,9%, n=34/41).

L'analyse descriptive de la population était nécessaire à l'interprétation des résultats observés dans notre étude sérologique. Ce sont ces éléments que nous présentons maintenant.

3.2 PREVALENCE ET FACTEURS DE RISQUE DE LA BABESIOSE EN CAMARGUE

Lors de l'analyse, 460 sérums ont été testés avec des antigènes de *B. equi* et *B. caballi*. 67,2% (n=309/460) des chevaux sont porteurs d'anticorps anti-*B. equi* et 22,8% (n=105/460) d'anticorps anti-*B. caballi*.

Donc près de 70% des chevaux en Camargue hébergent *B. equi*, et près de 25% *B. caballi*, ce qui est considérable.

Par ailleurs, 20,6% (n=95/460) présentent une réaction positive aux deux babesi, 46,5% (n=214/460) ne sont positifs qu'à *B. equi* et 2,2% (n=10/460) ne présentent de positivité qu'à *B. caballi*.

Si l'on s'intéresse aux réactions croisées entre *B. equi* et *B. caballi* ayant pu survenir lors du dosage de laboratoire, sur les 95 chevaux présentant une réaction positive aux deux babesi, 66 ont une réaction à ++++ pour l'une ou l'autre des babesi. Une réaction croisée entre *B. equi* et *B. caballi* a donc pu se produire sur 14,4% (n=66/460) des sérums testés.

3.2.1 EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE DE LA SEROPREVALENCE GRACE A L'ANALYSE BIVARIEE

Dans notre étude, nous avons considéré que la différence de prévalence observée entre deux facteurs était significative lorsque p (calculé à partir du test du Chi2) était inférieur ou égal à 0,05. Ensuite, quand il existait une telle différence, le calcul de l'Odds Ratio nous a permis de savoir si le facteur était un facteur de risque (Odds Ratio >1) ou un facteur protecteur (Odds Ratio <1). Il est important de souligner dès à présent que les facteurs de risque ou les

facteurs de protection rencontrés dans cette analyse bivariée sont des facteurs potentiels, ils ne représentent pas forcément des facteurs réels comme nous le verrons plus loin.

L'analyse a d'abord été réalisée à l'échelle des chevaux, puis à l'échelle des écuries, et enfin à l'échelle de l'environnement des chevaux autour des écuries.

3.2.1.1 A L'ECHELLE DES CHEVAUX

3.2.1.1.1 Relation positivité/ Activité principale

Les résultats de l'étude, à l'échelle individuelle, sont retranscrits dans le tableau 5.

Tableau 5 : relation entre l'activité principale des chevaux et leur statut sérologique vis-à-vis de *B. caballi* et de *B. equi*

Variable explicative	POSITIF		NEGATIF		p	OR	IC
	n	%	n	%			
Pour <i>B. caballi</i>							
Activité principale	100		330				
Travail des taureaux	37**	37	59	17,9	<0,0001	2,70	1,65 - 4,42
Loisir, repos	41	41	183	55,5			
Compétition, club, course	7	7	57	27,3			
Reproduction	15**	15	31	9,4	0,015	1,70	0,88 - 3,30
Pour <i>B. equi</i>							
Activité principale	291		139				
Travail des taureaux	82	28,2	14**	10,1	<0,0001	6,72	3,61 - 12,51
Loisir, repos	149	51,2	75	54			
Compétition, club, course	31	10,6	33**	23,7	0,003	0,38	0,22 - 0,66
Reproduction	29	10	17	12,2			

* signifie une association significative avec $p < 0.05$.

** signifie une association significative avec $p < 0.01$.

En fonction de l'activité principale pratiquée par les chevaux en Camargue, il existe des différences significatives de positivité à l'une ou l'autre des babesies :

- le facteur « travail des taureaux » est un facteur de risque pour *B. equi* ($p < 0,0001$) et pour *B. caballi* ($p < 0,0001$),
- le facteur « reproduction » est un facteur de risque pour *B. caballi* ($p = 0,015$),
- l'activité « compétition, club, course, dressage » est un facteur de protection pour *B. equi* ($p = 0,003$).

Les résultats permettant de distinguer les autres facteurs de risque de la babésiose en Camargue sont maintenant présentés en regroupant d'abord les facteurs de risque ayant trait aux caractéristiques physiques des chevaux, puis ceux liés à leurs caractéristiques sanitaires, viennent ensuite les facteurs de risque en relation avec l'habitat et enfin ceux se rattachant à l'historique des chevaux.

3.2.1.1.2 Relation positivité/Caractéristiques physiques et sanitaires

Tableau 6 : relation entre les caractéristiques physiques et sanitaires des chevaux et leur statut sérologique vis-à-vis de *B. caballi*

Variable explicative	POSITIF (n=105)		NEGATIF (n=355)		p	OR	IC
	n	%	n	%			
Caractéristiques physiques							
Race %	99		335				
Camargue	70**	70,7	147	43,9	<0,0001	3,09	1,90 - 5,01
Hispano, Portugais	11	11,1	81	24,2			
Chevaux près du sang	7	7,1	32	9,5			
selle(SF, Poneys, Autres)	11	11,1	75	22,4			
Sexe	105		352				
Femelle	26	24,8	91	25,8	0,02	0,41	0,20 - 0,82
Hongre	69	65,7	189	53,7			
Entier	10*	9,5	72	20,5			
Age ans	103		352		0,29		
[0 - 4[18	17,5	55	15,6			
[5 - 9[38	36,9	123	34,9			
[10 -14[21	20,4	94	26,7			
[15 -19[19	18,5	43	12,2			
>20	7	6,8	37	10,5			
Peau	105		350				
Sombre	66	62,9	256	73,1	0,04	1,61	1,01 - 2,55
Claire	39*	37,1	94	26,9			
Robe	105		353				
Gris	84	80	221	62,6	0,001	0,21	0,08 - 0,55
Alezan	7	6,7	45	12,7			
Bai	5**	4,8	67	19			
Noir	3	2,8	9	2,5			
Autre	6	5,7	11	3,1			
Caractéristiques sanitaires							
lutte contre moustiques	105		354	0,51			
Non	83	79	269	76	0,68		
Oui	22	21	55	24			
Etat général	105		354				
Bon	96	91,4	328	92,6			
Moyen / Mauvais	9	8,6	26	7,4			
Vaccination	105		353				
Non	52**	49,5	117	33,1	0,002	0,50	0,32 - 0,78
Oui	53	50,5	236	66,9			
Vermifugation	105		355				
Non	12*	11,4	18	5,1	0,02	0,41	0,19 - 0,89
Oui	93	88,6	337	94,9			
Maladies récentes	105		355		0,75		
Non	101	96,2	339	95,5			
Oui	4	3,8	16	4,5			

* signifie une association significative avec p<0.05.

** signifie une association significative avec p<0.01.

Tableau 7 : relation entre les caractéristiques physiques et sanitaires des chevaux et leur statut sérologique vis-à-vis de *B. equi*

Variable explicative	POSITIF (n=309)		NEGATIF (n=151)		p	OR	IC
	n	%	n	%			
Caractéristiques physiques							
Race %	291		143				
Camargue	187	64,2	30**	21	<0,0001	6,77	4,24 - 10,82
Hispano, Portugais	49	16,8	43	30			
Chevaux près du sang	17	5,8	22	15,4			
selle(SF, Poneys, Autres)	38	13	48	33,6			
Sexe	307		150				
Femelle	66	21,5	51	34	<0,0001	2,40	1,61 - 3,58
Hongre	195	63,5	63**	42			
Entier	46	15	36	24			
Age ans	306		149				
[0 - 4[44	14,4	29	19,4	0,04	2,37	1,07 - 5,23
[5 - 9[106	34,6	55	36,9			
[10 -14[72	23,5	43	28,8			
[15 -19[48	15,7	14	9,4			
>20	36	11,7	8*	5,4			
Peau	306		149				
Sombre	205	67	117	78,5	0,01	1,80	1,14 - 2,85
Claire	101	33*	32	21,5			
Robe	308		150	46			
Gris	236	76,6	69	20	<0,0001	0,31	0,17 - 0,56
Alezan	22	7,1	30**	27,3			
Bai	31	10	41**	4,7	<0,0001	0,30	0,18 - 0,50
Noir	5	1,6	7*	2	0,01	2,35	0,66 - 8,30
Autre	14	4,5	3				
Caractéristiques sanitaires							
lutte contre moustiques	309		150		0,15		
Non	243	78,6	109	72,7			
Oui	66	21,4	41	27,3			
Etat général	308		151		0,18		
Bon	281	91,2	143	94,7			
Moyen / Mauvais	27	8,8	8	5,3			
Vaccination	307		151				
Non	139	45,3	30**	19,9	<0,0001	0,30	0,19 - 0,48
Oui	168	54,7	121	80,1			
Vermifugation	308		151				
Non	26	8,5	4**	2,7	0,018	0,30	0,10 - 0,86
Oui	282	91,5	147	97,3			
Maladies récentes	309		151		0,23		
Non	298	96,5	142	94			
Oui	11	3,5	9	6			

* signifie une association significative avec $p < 0.05$.

** signifie une association significative avec $p < 0.01$.

Pour ce qui est des caractéristiques physiques des chevaux :

- la race Camargue est un facteur de risque pour les deux espèces de babesi ($p < 0,0001$ dans les deux cas),
- le caractère « hongre » est un facteur de risque pour *B. equi* ($p < 0,0001$) et le caractère « entier » un facteur protecteur pour *B. caballi* ($p = 0,02$),
- un âge supérieur à 20 ans est un facteur de risque pour *B. equi* ($p = 0,04$). En revanche, il n'existe pas de corrélation entre l'âge et les résultats pour *B. caballi*,

- le caractère peau claire est un facteur de risque pour les deux espèces de babesi (p=0,01 pour *B. equi* et p=0,04 pour *B. caballi*),
- les robes alezane et baie sont des facteurs protecteurs pour *B. equi* (p<0,001 dans les deux cas), la robe baie l'étant aussi pour *B. caballi* (p=0,001). La robe noire apparaît comme facteur de risque pour *B. equi* (p=0,01).

En ce qui concerne les caractéristiques sanitaires :

- l'existence ou non d'une lutte contre les moustiques et l'état général des chevaux n'influent pas sur les résultats pour *B. equi* (p=0,15 et p=0,18 respectivement), ni sur les résultats pour *B. caballi* (p=0,51 et p=0,68 respectivement),
- une vaccination et une vermifugation régulière sont des facteurs protecteurs contre les deux espèces de babesi (p<0,0001 et p=0,018 respectivement pour *B. equi*) (p=0,002 et p=0,02 respectivement pour *B. caballi*),
- aucune association significative n'a été mise en évidence entre la présence ou l'absence de maladie récente et les prévalences observées pour l'une ou l'autre des babesi (p=0,23 et p=0,75).

3.2.1.1.3 Relation positivité/caractéristiques de l'habitat, historique

Les caractéristiques de l'habitat influent aussi sur les résultats. Ces résultats sont présentés dans le tableau 8 pour *B. caballi* et le tableau 9 pour *B. equi* :

- le caractère « localisation 93 » est un facteur de risque pour *B. equi* (p<0,0001) et les localisations 91 et 92 sont des facteurs protecteurs pour *B. caballi* (p<0,0001 et p=0,004 respectivement),
- pour les chevaux, résider le jour dans les marais et les prés est un facteur de risque vis à vis les deux espèces de babesi (p<0,0001 et p=0,0002 pour *B. equi* et p<0,0001 et p<0,0001 *B. caballi*). Loger la nuit en box ou en paddock est un facteur protecteur contre ces deux espèces (p<0,0001 et p<0,0001 pour *B. equi* et p<0,0001 et p<0,0001 pour *B. caballi*),
- séjourner le moins de longtemps possible en zone humide est un facteur protecteur pour les deux espèces de babesi (p<0,0001 pour *B. equi* et p=0,02 pour *B. caballi*).

Tableau 8 : relation entre les caractéristiques des chevaux et leur statut sérologique vis-à-vis de *B. caballi* (caractéristiques de l'habitat et historique)

Variable explicative		POSITIF		NEGATIF		p	OR	IC
		n	%	n	%			
Caractéristiques de l'habitat								
Localisation	Total	105		355				
91		10**	9,5	131	36,9	<0,0001	0,18	0,09 - 0,36
92		20**	19	84	23,7	0,004	0,76	0,44 - 1,31
93		75	71,5	140	39,4			
Temps passé zone humide	Total	105		352				
<25		18*	17,1	108	30,7	0,02	0,47	0,27 - 0,81
[25-75[15	14,3	45	12,8			
>75		72	68,6	199	56,5			
Déplacement	Total	105		355		0,33		
Non		81	77,1	289	81,4			
Oui		24	22,9	66	18,6			
Logement jour	Total	105		355				
Box		4	3,8	49	13,8			
Paddock +/- Abris, box		14	13,3	134	37,7			
Pré +/- Abris		59**	56,2	129	36,3	<0,0001	2,25	1,44 - 3,50
Marais		28**	26,7	43	12,1	<0,0001	2,64	1,54 - 4,51
Logement nuit	Total	104		354				
Box		14**	13,5	111	31,3	<0,0001	0,34	0,19 - 0,62
Paddock +/- Abris	box	6**	5,8	76	21,5	<0,0001	0,22	0,09 - 0,53
Pré +/- Abris		57	54,8	125	35,3			
Marais		27	26	42	11,9			
Historique								
Lieu de naissance	Total	97		327				
Zone étude		73	75,3	202	61,8			
France hors zone		17	17,5	78	23,8			
Etranger		7*	7,2	47	14,4	0,04	0,46	0,20 - 1,06
Délai d'acquisition	Total	98		330		0,74		
0		6	6,1	23	7			
1-4		35	35,7	103	31,2			
5-9		29	29,6	115	34,8			
>10		28	28,6	89	27			

* signifie une association significative avec $p < 0.05$.

** signifie une association significative avec $p < 0.01$.

Lorsque l'on s'intéresse à l'historique des chevaux :

- être né hors de la zone d'étude est un facteur protecteur pour *B. equi* ($p=0,0002$ en France et $p=0,004$ à l'étranger), être né à l'étranger l'est aussi pour *B. caballi* ($p=0,04$),
- le délai d'acquisition n'a pas d'influence sur les résultats du test pour *B. equi* et *B. caballi* ($p=0,101$ et $p=0,74$ respectivement).

Tableau 9 : relation entre les caractéristiques des chevaux et leur statut sérologique vis-à-vis de *B. equi* (caractéristiques de l'habitat et historique)

Variable explicative		POSITIF		NEGATIF		p	OR	IC
		n	%	n	%			
Caractéristiques de l'habitat								
Localisation	Total	309		151				
91		78	25,2	63	41,7			
92		56	8,1	48	31,8			
93		175	56,6	40**	26,5	<0,0001	3,62	2,37 - 5,55
Temps passé zone humide	Total	308		149				
<25		61	19,8	65**	43,6	<0,0001	0,32	0,21 - 0,49
[25-75[50	16,2	10	6,7			
>75		197	64	74	49,7			
Déplacement	Total	309		151		0,378		
Non		251	81,2	119	78,8			
Oui		58	18,8	32	21,2			
Logement jour	Total	151		309				
Box		27	8,7	26	17,2			
Paddock +/- Abris, box		79	25,6	69	45,7			
Pré +/- Abris		137	44,3	51**	33,8	0,0002	1,56	1,04 - 2,34
Marais		66	21,4	5**	3,3	<0,0001	7,93	3,12 - 20,14
Logement nuit	Total	307		151				
Box		53	17,3	72**	47,7	<0,0001	0,23	0,15 - 0,35
Paddock +/- Abris	box	48	15,6	34**	22,5	<0,0001	0,64	0,39 - 1,04
Pré +/- Abris		142	46,3	40	26,5			
Marais		64	20,8	5**	3,3	0,007	7,69	3,03 - 19,55
Historique								
Lieu de naissance	Total	282		142				
Zone étude		202	71,6	73	51,4			
France hors zone		51	18,1	44**	31	0,0002	0,49	0,31 - 0,78
Etranger		29	10,3	25**	17,6	0,004	0,54	0,30 - 0,96
Délai acquisition	Total	283		145		0,1012		
0		14	5	15	10,3			
1-4		93	32,8	45	31			
5-9		92	32,5	52	35,9			
>10		84	29,7	33	22,7			

* signifie une association significative avec $p < 0.05$.

** signifie une association significative avec $p < 0.01$.

En conclusion de cette analyse bivariée, lorsque l'on se place à l'échelle des chevaux, nous pouvons dire que plusieurs facteurs apparaissent comme des facteurs de risque potentiels ou comme des facteurs protecteurs potentiels pour les chevaux de Camargue.

Afin d'illustrer ces résultats, deux exemples ont été retenus : le premier figurera le cheval « type » prédisposé pour *B. equi* ; le second, le cheval « type » le moins prédisposé à une affection à *B. caballi*.

Par recoupement, le cheval « type » prédisposé pour *B. equi* serait un cheval de race Camargue, qui travaille avec les taureaux, hongre, de plus de 20 ans, avec une peau claire, non vacciné et non vermifugé, vivant sur la zone 93 dans un marais ou un pré le jour et la nuit, et passant plus de 25% du temps en zone humide.

Le cheval « type » le moins prédisposé à une affection à *B. caballi* serait un cheval de compétition ou de course, entier, de couleur baie, vacciné et vermifugé, vivant dans la zone 91 ou 92 et né à l'étranger, passant ses journées et ses nuits en box ou en paddock et résidant très peu de temps en zone humide.

3.2.1.2 A L'ECHELLE DES ECURIES

Une écurie dite positive à *B. equi* ou à *B. caballi* est une écurie dans laquelle au moins un cheval est positif à l'un ou l'autre des parasites.

Ainsi, 93% (n=93/100) des écuries sont positives à *B. equi* et 50% (n=50/100) le sont à *B. caballi*. 4% (n=4/100) des écuries seulement sont négatives aux deux babesi, 46% (n=46/100) sont positives aux deux babesi, 3% (n=3/100) ne le sont qu'à *B. caballi* et 46% (n=46/100) qu'à *B. equi*.

3.2.1.2.1 Relation positivité/Caractéristiques logistiques et sanitaires des écuries

Les caractéristiques liées aux écuries ont été regroupées dans le tableau 10 pour *B. caballi* et dans le tableau 11 pour *B. equi*.

La localisation 93 est un facteur de risque pour *B. caballi* (p=0,0006).

Le fait d'introduire plus de cinq nouveaux chevaux par an dans une écurie est un facteur de risque pour *B. caballi* (p=0,047).

Par contre aucune des caractéristiques étudiées n'apparaît comme étant un facteur de risque ou un facteur protecteur pour *B. equi*.

Tableau 10 : relation entre les caractéristiques des écuries et leur statut sérologique vis-à-vis de *B. caballi*

Variable explicative		POSITIF (n=50)		NEGATIF (n=50)		p	OR	IC
		n	%	n	%			
CARACTERISTIQUES LOGISTIQUES								
Activité principale	Total	46		47		0,319		
Travail		14	30,4	8	17			
Loisir repos promenade		11	23,9	15	31,9			
Club compétition		9	19,6	14	29,8			
Reproduction		12	26,1	10	21,3			
Localisation	Total	50		50				
91		8	16	22	44			
92		12	24	16	22			
93		30**	60	12	24	0,0006	4,75	2,01 - 11,24
Gestion		49		47		0,424		
Propriétaire		29	59,2	24	51,1			
Ecurie		20	40,8	23	48,9			
Vide sanitaire	Total	12		28		0,162		
Absence		10	83,3	17	60,7			
Présence		2	16,7	11	39,3			
Personnel soignant	Total	42		42		0,656		
[0 ; 3[16	38,1	19	45,2			
[3 ; 5[17	40,5	13	31			
>=5		9	21,4	10	23,8			
Personnel fréquentant	Total	41		42		0,850		
[0 ; 25[31	75,9	31	73,8			
>=25		10	24,4	11	26,2			
Superficie disponible	Total	48		48		0,254		
0		8	16,7	10	20,8			
[1 ; 10[13	27,1	19	39,6			
>=10		27	56,2	19	39,6			
Logement été jour	Total	47		47		0,371		
Box		8	17	7	14,9			
Paddock +/- Abris +/- box		5	10,6	10	21,3			
Pré +/- Abris/ Marais		34	72,4	30	63,8			
Logement été nuit	Total	45		45		0,323		
Box		13	28,9	16	35,5			
Paddock +/- Abris +/- box		2	4,4	5	11,1			
Pré +/- Abris/ Marais		30	66,7	24	53,3			
Variation de logement	Total	44		43		0,194		
Non		33	75	37	86			
Oui		11	25	6	14			
Nombre d'équidés	Total	48		48		0,445		
[0 ; 10[12	25	17	35,4			
[10 ; 30[19	39,6	14	29,2			
>=30		17	35,4	17	35,4			
Nouveaux chevaux/an	Total	44		42				
0		24	54,5	23	54,8			
[1-5]		8	18,2	15	35,7			
>5		12	27,3	4*	9,5	0,047	3,56	1,04 - 12,13
Nouveaux poulains/an	Total	47		46		0,208		
0		29	61,7	34	73,9			
1 ou plus		18	38,3	12	26,1			
CARACTERISTIQUES SANITAIRES DES ECURIES								
Traitement contre moustiques	Total	48		48				
Non		24	50	24	50			
Oui		24	50	24	50			
Lutte chimique sur chevaux		47		47		0,678		
Non		25	53,2	27	57,5			
Oui		22	46,8	20	42,5			
Lutte chimique dans bâtiments		47		48		0,283		
Non		36	76,6	32	66,7			
Oui		11	23,4	16	33,3			

* signifie une association significative avec p<0.05.

** signifie une association significative avec p<0.01.

Tableau 11 : relation entre les caractéristiques des écuries et leur statut sérologique vis-à-vis de *B. equi*

Variable explicative		POSITIF		NEGATIF		p	OR	IC
		n	%	n	%			
CARACTERISTIQUES LOGISTIQUES								
Activité principale	Total	87		6		0,4		
Travail		22	25,3	0	0			
Loisir repos promenade		23	26,4	3	50			
Club compétition		22	25,3	1	16,7			
Reproduction		20	23	2	33,3			
Localisation	Total	93		7		0,160		
91		28	30,1	2	28,6			
92		24	25,8	4	57,1			
93		41	44,1	1	14,3			
Gestion		89		7		0,09		
Propriétaire		47	52,8	6	85,7			
Ecurie		42	47,2	1	14,3			
Vide sanitaire	Total	66		6		0,815		
Absence		47	71,2	4	66,7			
Présence		19	28,8	2	33,3			
Personnel soignant	Total	78		6		0,192		
[0 ; 3[33	42,3	2	33,3			
[3 ; 5[26	33,3	4	66,7			
>=5		19	27,4	0	0			
Personnel fréquentant	Total	77		6		0,610		
[0 ; 25[57	74	5	83,3			
>=25		20	26	1	16,7			
Superficie disponible	Total	90		6		0,277		
0		16	17,8	2	33,3			
[1 ; 10[29	32,2	3	50			
>=10		45	50	1	16,7			
Logement été jour	Total	88		6		0,537		
Box		15	17	0	0			
Paddock +/- Abris +/- box		14	16	1	16,7			
Pré +/- Abris/ Marais		59	67	5	83,3			
Logement été nuit	Total	85		5		0,775		
Box		27	31,7	2	40			
Paddock +/- Abris +/- box		7	8,3	0	0			
Pré +/- Abris/ Marais		51	60	3	60			
Variation de logement	Total	81		6		0,210		
Non		64	79	6	100			
Oui		17	21	0	0			
Nombre d'équidés	Total	90		6		0,133		
[0 ; 10[25	27,8	4	66,6			
[10 ; 30[32	35,6	1	16,7			
>=30		32	36,7	1	16,7			
Nouveaux chevaux/an	Total	80		6		0,299		
0		42	52,5	5	83,3			
[1-5]		22	27,5	1	16,7			
>5		16	20	0	0			
Nouveaux poulains/an	Total	87		6		0,950		
0		59	67,8	4	66,7			
1 ou plus		28	32,2	2	33,3			
CARACTERISTIQUES SANITAIRES DES ECURIES								
Traitement contre moustiques	Total	90		6				
Non		45	50	3	50			
Oui		45	50	3	50			
Lutte chimique sur chevaux		88		6		0,563		
Non		48	54,5	4	66,7			
Oui		40	45,5	2	33,3			
Lutte chimique dans bâtiments		89		6		0,226		
Non		65	73	3	50			
Oui		24	27	3	50			

* signifie une association significative avec $p < 0.05$.

** signifie une association significative avec $p < 0.01$.

3.2.1.2.2 Relation positivité/Signes cliniques pouvant être associés à la babésiose dans les écuries

Nous avons étudié la relation entre les signes cliniques rencontrés dans les écuries et la présence ou non de chevaux porteurs chroniques de babesi, les résultats sont les suivants :

Tableau 12 : relation entre les signes cliniques relevés dans les écuries et leur statut sérologique vis-à-vis de *B. caballi*

Variable explicative	POSITIF		NEGATIF		p	OR	IC
	n	%	n	%			
SIGNES CLINIQUES							
Trouble neurologique	48		47		0,426		
Absence	39	81,3	35	74,5			
Présence	9	18,7	12	25,5			
Hyperthermie	48		47		0,606		
Absence	35	72,9	32	68,1			
Présence	13	23,1	15	31,9			
Ictère	48		47		0,537		
Absence	33	68,7	35	74,5			
Présence	15	31,3	12	25,5			
Œdème des membres	48		48		0,726		
Absence	43	89,6	44	91,7			
Présence	5	10,4	4	8,3			
Diarrhée	46		45		0,967		
Absence	39	88,7	40	87			
Présence	6	11,3	5	13			
Colique	48		48		0,673		
Absence	31	64,6	29	60,4			
Présence	17	35,4	19	39,6			
Anémie	48		47		0,856		
Absence	36	75	36	76,6			
Présence	12	25	11	23,4			
Broncho-pneumonie	46		47		0,588		
Absence	28	60,9	26	55,3			
Présence	18	39,1	21	44,7			
Fourbure	47		47		0,536		
Absence	40	85,1	42	89,4			
Présence	7	14,9	5	10,6			
Avortement	48		48		0,646		
Absence	14	29,2	12	25			
Présence	34	70,8	36	75			
Positivité écuries WN	Total	48	49		0,309		
Négatif		45	43	87,7			
Positif		3	6	12,3			

* signifie une association significative avec $p < 0.05$.

** signifie une association significative avec $p < 0.01$.

Tableau 13 : relation entre les signes cliniques relevés dans les écuries et leur statut sérologique vis-à-vis de *B. equi*

Variable explicative	POSITIF		NEGATIF		p	OR	IC
	n	%	n	%			
SIGNES CLINIQUES							
Troubles neurologique	89		6		0,740		
Absence	69	77,5	5	83,3			
Présence	20	22,5	1	16,7			
Hyperthermie	90		5		0,137		
Absence	62	68,9	5	100			
Présence	28	31,1	0	0			
Ictère	90		5		0,148		
Absence	63	70	5	100			
Présence	27	30	0	0			
Œdème des membres	90		6		0,527		
Absence	82	91,1	5	83,3			
Présence	8	8,9	1	16,7			
Diarrhée	86		5		0,370		
Absence	74	86	5	100			
Présence	12	14	0	0			
Colique	90		6		0,270		
Absence	55	61,1	5	83,3			
Présence	35	38,9	1	16,7			
Anémie	90		5		0,821		
Absence	68	75,5	4	80			
Présence	22	24,5	1	20			
Broncho-pneumonie	88		5		0,928		
Absence	51	58	3	60			
Présence	37	42	2	40			
Fourbure	89		5		0,379		
Absence	77	86,5	5	100			
Présence	12	13,5	0	0			
Avortement	90		6		0,722		
Absence	24	26,6	2	33,3			
Présence	66	73,3	4	66,7			
Positivité écuries WN	Total		7		0,635		
Négatif	82	91,1	6	85,7			
Positif	8	8,9	2	14,3			

* signifie une association significative avec $p < 0.05$.

** signifie une association significative avec $p < 0.01$.

Les signes cliniques présentés ci-dessus peuvent tous être rencontrés lors de babésiose aiguë clinique. Il est alors intéressant de noter qu'aucun d'entre eux n'est associé à la positivité des écuries. L'interprétation de ces résultats sera abordée au cours de la discussion.

3.2.1.3 A L'ECHELLE DE L'ENVIRONNEMENT DES CHEVAUX AUTOUR DES ECURIES

Les résultats de l'analyse sont présentés dans les tableaux 14 et 16 pour *B. caballi* et les tableaux 15 et 17 pour *B. equi*.

3.2.1.3.1 Relation positivité/Animaux présents au contact des chevaux

L'absence de vaches dans les écuries est un facteur protecteur pour *B. equi* ($p=0,007$) et pour *B. caballi* ($p=0,009$).

La présence d'oiseaux garde bœufs et d'aigrettes est un facteur de risque potentiel pour *B. caballi* ($p=0,028$ et $p=0,023$ respectivement).

Tableau 14 : relation entre les caractéristiques de l'environnement (faune) des écuries et leur statut sérologique vis-à-vis de *B. caballi*

Variable explicative		POSITIF		NEGATIF		p	OR	IC
		n	%	n	%			
MAMMIFERES								
Vaches								
Distance	Total	42		27		0,811		
<500		13	31	7	25,9			
>500		15	35,7	9	33,3			
non		14	33,3	11	40,7			
Nombre	Total	44		46		0,007	0,21	0,07 - 0,58
0		6**	13,6	20	43,5			
[1-60[13	29,5	10	21,7			
>60		25	56,8	16	34,8			
Moutons	Total	44		43		0,931		
0		29	65,9	28	65,1			
[1-60[6	13,6	7	16,3			
>60		9	20,5	8	18,6			
Chevaux	Total	25		25		0,326		
0		3	12	7	28			
[1-10[9	36	6	24			
>10		13	52	12	48			
Chèvres	Total	48		46		0,878		
Absence		38	79,2	37	80,4			
Présence		10	20,8	9	19,6			
Porcs	Total	46		47		0,277		
Absence		40	87	44	93,6			
Présence		6	13	3	6,4			
OISEAUX								
Oiseaux domestiques								
Volailles	Total	48		48		0,534		
0		20	41,7	21	43,7			
[1-10[10	20,8	6	12,5			
>10		18	37,5	21	43,7			
Oiseaux sauvages								
Garde bœuf	Total	48		48		0,028	2,71	1,10 - 6,69
Absence		10	20,8	20*	41,7			
Présence		38	79,2	28	58,3			
Aigrette	Total	48		48		0,023	2,60	1,13 - 5,98
Absence		22	45,8	33	68,7			
Présence		26*	54,2	15	31,3			
Héron	Total	48		48		0,302		
Absence		25	52	30	62,5			
Présence		23	48	18	37,5			
Vanneau						0,336		
Buse						0,145		
Corneille						0,682		
Moineau						0,820		
Etourneau						0,680		
Hirondelle						0,539		
Tourterelle						0,653		

* signifie une association significative avec p<0.05.

** signifie une association significative avec p<0.01.

Tableau 15 : relation entre les caractéristiques de l'environnement (faune) des écuries et leur statut sérologique vis-à-vis de *B. equi*

Variable explicative			POSITIF		NEGATIF		p	OR	IC
			n	%	n	%			
MAMMIFERES									
Vaches	Nombre	Total	84		6				
	0		22	26,2	4*	66,7	0,044	0,18	0,03 - 1,04
	[1-60[21	25	2	33,3			
	>60		41	48,8	0	0			
Moutons	Total	82	5		5		0,944		
	0		54	65,9	3	60			
	[1-60[12	14,6	1	20			
	>60		16	19,5	1	20			
Chevaux	Total	45	5		5		0,264		
	0		9	20	1	20			
	[1-10[12	26,7	3	60			
	>10		24	53,3	1	20			
Chèvres	Total	88	6		6		0,823		
	Absence		70	79,5	5	83,3			
	Présence		18	20,5	1	16,7			
	Total	87	6		6		0,549		
Porcs	Absence		79	90,8	5	83,3			
	Présence		8	9,2	1	16,7			
OISEAUX									
Oiseaux domestiques									
Volailles	Nombre		87		6		0,395		
	0		35	40,2	4	66,6			
	[1-10[15	17,2	1	16,7			
	>10		37	42,6	1	16,7			
Oiseaux sauvages									
Pigeon	Total	90	6		6		0,058		
	Absence		82	91,1	4	66,7			
	Présence		8	8,9	2	33,3			
	Total	87	6		6		0,631		
Aigrette							0,632		
Héron							0,363		
Vanneau							0,531		
Buse							0,139		
Corneille							0,519		
Moineau							0,167		
Etourneau							0,126		
Hirondelle							0,139		
Canard							0,722		
Pie							0,104		
Tourterelle									

* signifie une association significative avec $p < 0.05$.

** signifie une association significative avec $p < 0.01$.

3.2.1.3.2 Relation positivité/Végétation

Tableau 16 : relation entre les caractéristiques de l'environnement (flore) des écuries et leur statut sérologique vis-à-vis de *B. caballi*

Variable explicative		POSITIF n	%	NEGATIF n	%	p	OR	IC
VEGETATION (en %)								
Eau dans végétation	Total	48		48				
0		13	27,1	29**	60,4	0,004	4,11	1,74 - 9,71
[0-30[10	20,8	4	8,3			
>30		25	52,1	15	31,3			
Prairie herbeuse	Total	48		48		0,368		
0		21	43,7	23	47,9			
[0-30[10	20,8	5	10,4			
>30		17	35,4	20	41,7			
Arbres + forêt	Total	48		48		0,782		
0		23	47,9	25	52,1			
[0-10[23	47,9	20	41,7			
>10		2	4,2	3	6,6			
Haies + garrigue	Total	48		48				
0		42	87,5	37	77,1			
[0-30[4	8,3	11	22,9			
>30		2	4,2	0	0			
Cultures + blé	Total	48		48		0,160		
0		27	56,2	27	56,2			
[0-30[16	33,3	10	20,8			
>30		5	10,4	11	23			
Bâtiments	Total	48		48		0,181		
Absence		42	87,5	37	71,1			
Présence		6	12,5	11	22,9			

* signifie une association significative avec $p < 0.05$.

** signifie une association significative avec $p < 0.01$.

Tableau 17 : relation entre les caractéristiques de l'environnement (flore) des écuries et leur statut sérologique vis-à-vis de *B. equi*

Variable explicative		POSITIF n	%	NEGATIF n	%	p	OR	IC
VEGETATION (en %)								
Eau dans végétation	Total	90		6		0,543		
0		37	41,1	5	83,3			
[0-30[14	15,6	0	0			
>30		39	43,3	1	16,7			
Prairie herbeuse	Total	90		6		0,286		
0		43	47,8	1	16,7			
[0-30[14	15,6	1	16,7			
>30		33	36,7	4	66,6			
Arbres + forêt	Total	90		6		0,236		
0		43	47,8	5	83,3			
[0-10[42	46,7	1	16,7			
>10		5	5,6	0	0			
Haies + garrigue	Total	90		6		0,448		
0		75	83,3	4	66,7			
[0-30[13	14,4	2	33,3			
>30		2	2,2	0	0			
Cultures + blé	Total	90		6		0,827		
0		50	55,6	4	66,7			
[0-30[25	27,8	1	16,7			
>30		15	16,7	1	16,7			
Bâtiments	Total	90		6		0,810		
Absence		74	82,2	5	83,3			
Présence		16	17,8	1	16,7			

* signifie une association significative avec $p < 0.05$.

** signifie une association significative avec $p < 0.01$.

Lorsque l'on s'attache aux caractéristiques de la végétation présente autour des écuries, les résultats se rapprochent de ceux rencontrés lors de l'analyse individuelle pour chaque cheval, à savoir que le facteur « eau associée à de la végétation » regroupant les roselières, les rizières, les prairies inondées et les marais est un facteur de risque pour *B. caballi* ($p=0,004$). Aucune différence significative n'est en revanche mise en évidence ici pour *B. equi*.

3.2.2 APPROCHE DES FACTEURS DE CONFUSION INTERVENANT LORS DE L'ANALYSE BIVARIEE

Tableau récapitulatif 18 : facteurs de risque et de protection mis en évidence grâce à l'analyse bivariée

<i>Babesia equi</i>		<i>Babesia caballi</i>	
Facteur de risque	Facteur protecteur	Facteur de risque	Facteur protecteur
A l'échelle individuelle			
Travail avec les taureaux	Club, compétition, course, dressage	Travail avec les taureaux, reproduction	
Race Camargue		Race Camargue	
Hongre			Entier
Age > 20 ans			
Peau claire		Peau claire	
Robe noire	Robes alezane, baie		Robe baie
	Vaccination régulière		Vaccination régulière
	Vermifugation régulière		Vermifugation régulière
Localisation 93		Localisation 93	
Marais la journée		Marais la journée	
Pré la journée		Pré la journée	
	Box la nuit		Box la nuit
	Paddock la nuit		Paddock la nuit
	<25% du temps en zone humide		<25% du temps en zone humide
	Né hors zone d'étude		Né à l'étranger
A l'échelle des écuries			
Présence de vaches		Localisation 93	
		Marais, prairies inondées	
		Turn-over > 5 chevaux	
		Présence de vaches	
		Garde-boeufs	
		Aigrettes	

Le but de ce paragraphe est de sensibiliser le lecteur aux facteurs de confusion susceptibles d'être intervenus lors de l'analyse bivariée.

Parmi tous les facteurs de risque et de protection potentiels mis en évidence, certains ne sont sans doute pas des facteurs de risque réels, ou des facteurs de protection réels. En effet, si un facteur de risque réel (A) prédispose fortement les chevaux au portage d'une babesia, et si ce même facteur (A) est fortement lié à un autre facteur (B), alors le facteur (B) peut apparaître

comme facteur de risque potentiel sans l'être réellement. Le facteur (A) induit un biais sur le résultat du facteur (B).

Prenons un exemple : d'après l'épidémiologie, les tiques vectrices vivent dans des zones herbeuses. Le facteur « logement dans un pré » peut, en toute logique, être un facteur de risque réel pour la babésiose. Par contre, l'épidémiologie de la maladie n'explique pas que le caractère « entier » soit un facteur protecteur pour la maladie. On peut, à ce moment là, se demander si être entier pour un cheval est réellement un facteur de protection ou si un biais entraîne ce résultat. Dans cet exemple, on peut penser que les entiers sont en général des chevaux « chauds » qui vivent plutôt en box. Ceci est confirmé par l'analyse descriptive de la population des chevaux en Camargue : les entiers vivent significativement ($p < 0,0001$) plus souvent en box que les autres (la moitié ($n=28/56$) des chevaux vivant en box sont entiers). Le facteur « cheval entier » peut donc apparaître comme facteur protecteur alors que c'est le facteur « vie en box » qui est le facteur protecteur réel contre la babésiose.

De la même façon, à l'échelle des écuries, la présence d'aigrettes est un facteur de risques potentiel pour *B. caballi*. N'étant généralement pas reliés à l'épidémiologie des babésioses, on peut se demander si ces oiseaux représentent un facteur de risque réel, d'autant que lorsque l'on reprend la description de la population, dans 57% ($n=25/44$) des cas, les aigrettes vivent dans la zone 93, elle-même facteur de risque pour la maladie. Ces résultats pourraient de ce fait être biaisés.

A travers ces exemples, le lecteur peut se rendre compte que l'analyse bivariée présente une limite quant à l'interprétation des résultats car elle n'intéresse qu'un facteur à la fois, comme si ces facteurs étaient indépendants les uns des autres, or l'analyse descriptive de la population montre bien que certains sont liés.

Une autre difficulté, liée cette fois à la distribution des chevaux de l'échantillon, empêche de définir, pour certains facteurs, lesquels sont effectivement facteurs de risque ou protecteurs : prenons par exemple deux facteurs de risque pour *B. caballi* : « résider dans la localisation 93 » et « vivre dans les marais la journée ». Dans l'analyse descriptive de la population, ces deux facteurs sont significativement associés ($p < 0,0001$). Ce sont donc les mêmes chevaux qui résident dans la zone 93 et qui vivent dans les marais. On ne peut alors pas distinguer grâce à une analyse statistique ces deux facteurs. On ne peut que définir une sous-population de chevaux « résidant dans la zone 93 et vivant dans les marais ». Afin de déterminer quels facteurs sont effectivement facteurs de risque vis-à-vis du portage de *B. caballi*, on devra alors comparer le nouveau facteur de risque potentiel : « résider dans la zone 93 et vivre dans les marais » aux autres facteurs potentiels.

On peut ainsi en comparant les résultats obtenus dans le tableau 18 de l'analyse bivariée et les résultats de l'analyse descriptive de la population définir les sous-populations suivantes :

- pour *Babesia caballi* et *Babesia equi*, il existe une sous-population à risques de chevaux de race Camargue, qui travaille avec les taureaux, présente une peau claire, réside dans la zone 93 et vit dans les marais,
- vis-à-vis du portage de *Babesia equi*, il existe aussi une sous population plutôt protégée constituée des chevaux vivant en club, participant à des compétitions, de la course, ou du dressage, ayant une robe baie, vivant la nuit en box ou en paddock, passant moins de 25% du temps en zone humide et étant nés hors de la zone d'étude,
- à l'échelle des écuries, on trouve aussi une sous population à risque vis-à-vis de *Babesia caballi* constituée des écuries situées dans la zone 93 et associées en majorité à des marais et à des prairies inondées.

Grâce à notre analyse bivariée, les facteurs qui peuvent effectivement être discutés sont les suivants :

Tableau 19 : facteurs de risques et de protection utilisés au cours de la discussion

<i>Babesia equi</i>		<i>Babesia caballi</i>	
Facteurs de risque	Facteurs protecteurs	Facteurs de risque	Facteurs protecteurs
A l'échelle individuelle			
Travail taureaux Race Camargue Peau claire Localisation 93 Marais la journée	Club, compétition, course, dressage Robe baie Box la nuit Paddock la nuit <25% du temps en zone humide Né hors zone d'étude Vaccination régulière	Travail taureaux Race Camargue Peau claire Localisation 93 Marais la journée	
		Reproduction	
Hongre			Entier
Age>20 ans			
Robe noire	Robe alezane		Robe baie
			Vaccination régulière
	Vermifugation régulière		Vermifugation régulière
Pré la journée		Pré la journée	
			Box la nuit
			Paddock la nuit
			<25% du temps en zone humide
			Né à l'étranger
A l'échelle des écuries			
Présence de vaches		Localisation 93 Marais, prairies inondées	
		Turn-over >5 chevaux	
		Présence de vaches	
		Garde-boeufs	
		Aigrettes	

A ce stade de la présentation, il aurait été souhaitable d'inclure les résultats présentés dans le tableau 19 dans un modèle multivarié afin de mettre en évidence d'éventuelles relations entre les facteurs retenus. Ces résultats n'étant pas encore disponibles, les conclusions définitives de cette étude seront donc publiées au cours de l'année 2003 dans un article de revue spécialisée. Pour la discussion, on ne pourra donc émettre que des hypothèses quant à la relation entre les facteurs de risque et les facteurs protecteurs potentiels apportés par l'analyse bivariée et les facteurs de risque et protecteurs réels que nous aurait indiquée l'analyse multivariée.

4 DISCUSSION

Dans cette dernière partie on abordera les difficultés rencontrées lors de la réalisation du protocole d'étude, on commentera la prévalence de la babésiose en Camargue par rapport aux autres régions du monde. On tentera ensuite d'expliquer, en fonction de nos connaissances théoriques, les facteurs de risque ou les facteurs protecteurs mis en évidence dans notre étude, ce qui nous permettra de présenter des moyens de lutte utilisables en pratique par les propriétaires désirant limiter le nombre de chevaux porteurs dans leur effectif.

4.1 PROTOCOLE REALISE

4.1.1 L'ECHANTILLON PRELEVE

Un certain nombre de difficultés ont été rencontrées au cours de la réalisation de l'enquête :

- Tout d'abord, il a été difficile de motiver les propriétaires de chevaux à participer à une étude sur la maladie de West Nile. En effet des problèmes économiques générés par l'épidémie de 2000 et l'immobilisation des chevaux imposée durant cette période ont été à l'origine de réticences de la part des propriétaires quand on leur annonçait que l'on souhaitait tester à nouveau leurs chevaux pour cette maladie. Il a donc été demandé au départ aux vétérinaires de cartographier les écuries susceptibles de participer. Un premier tri non aléatoire des écuries a été réalisé à ce moment-là.
- Ensuite, comme d'une part le but premier de l'étude était de savoir si oui ou non le virus West Nile s'était implanté en Camargue, et que d'autre part le nombre de chevaux qu'il nous était possible de prélever était limité à environ cinq cents (ce pour des raisons budgétaires), il nous a paru préférable de prélever les chevaux ayant eu le plus de risques d'être en contact avec les vecteurs moustiques. Dans une écurie donnée, les chevaux passant le plus de temps à l'extérieur ont donc été privilégiés.
- Une autre difficulté a été que certains propriétaires ne souhaitaient pas répondre ou ne répondaient pas très clairement lorsque nous leur demandions l'effectif total de leur cheptel de chevaux. Les raisons de ces réticences ne nous ont pas été communiquées mais il semble que des rivalités entre les différents exploitants puissent expliquer cela.
- Enfin, lors de la réalisation des prélèvements, nous pensions que dans une écurie donnée, il serait relativement aisé de prélever au hasard n'importe quel cheval afin d'avoir au final une représentation homogène de l'effectif. Nous nous sommes rapidement rendu compte que la plupart des juments de race Camargue vivaient en semi-liberté, et qu'elles n'étaient rassemblées qu'au moment du sevrage des poulains. Il a donc été impossible de réaliser les prélèvements sur ces femelles, ce qui explique en partie que, dans l'échantillon retenu pour l'étude, les chevaux de race Camargue soient en grande majorité des hongres.

Malgré ces quelques biais liés au mode d'élevage de certains chevaux, aux réticences de quelques éleveurs et aux besoins de l'étude, il semble que l'échantillon reste assez représentatif de la population des chevaux en Camargue. Cette étude nous a permis de valider les paramètres descriptifs de la population équine de Camargue et de son élevage, ce qui était d'autant plus important du fait de l'absence d'information démographique concernant cette population (localisations géographique, dénombrement et structure de cette population).

Elle nous a permis de définir un certain nombre de caractéristiques du milieu nécessaire à la description de l'environnement des chevaux en Camargue.

La validité des données a pu être vérifiée lors de la description de la population des chevaux, des exploitations et de l'environnement. Les résultats observés sont en effet parfaitement cohérents par rapport aux observations de terrain et aux connaissances préalables que nous avons de la structure de la population équine en France.

4.1.2 LE TEST DIAGNOSTIC

Lors de la mise en place de l'étude, nous avons proposé à différents laboratoires de réaliser les dépistages sérologiques dont nous avons besoin. Les laboratoires qui ont répondu favorablement à notre requête ont alors eu le choix du test diagnostique. Ainsi, pour la babésiose, le laboratoire d'études et de recherches en pathologie animale et zoonoses de l'AFSSA-ALFORT a effectué un dépistage grâce à la méthode de fixation du complément. Cette méthode qui, comme on l'a évoqué plus haut, paraît manquer de sensibilité, reste la méthode de référence utilisée par la communauté internationale pour autoriser ou non le transport des chevaux d'un pays à l'autre.

Cette épreuve de fixation du complément sera complétée par une recherche directe des parasites par PCR, ce qui devrait permettre d'affiner les résultats et, grâce à la comparaison des deux méthodes, d'avoir une idée plus objective de la sensibilité et de la spécificité du test de fixation du complément.

Quoiqu'il en soit, cette méthode demeure un bon moyen de dépistage lors de la réalisation d'études épidémiologiques sur de grands effectifs. Elle nous a permis de définir des facteurs de risque cohérents avec l'épidémiologie de la maladie.

4.1.3 LA PERIODE DE PRELEVEMENT

Dans la bibliographie, il était présenté clairement que la période de transmission de la babésiose et de la maladie de West Nile se limitait au printemps et à l'automne, périodes d'activité des vecteurs en zone tempérée (65). Afin d'établir un état des lieux de ces maladies en 2001, ce qui devait permettre de déterminer l'incidence de ces maladies au cours de cette année et des années à venir, il paraissait nécessaire de réaliser les prélèvements après la période de transmission. Or, dans cette région méditerranéenne, il s'est avéré que les vecteurs, tiques et moustiques, étaient présents toute l'année. La contamination pouvait donc s'effectuer l'hiver.

De plus, la période de prélèvement s'étant étendue sur trois mois et demi, il paraît possible que le statut sérologique de certains chevaux ait changé entre le début et la fin de cette période. Les mesures de l'incidence de la babésiose au cours des années à venir, si elle est réalisée, devra donc tenir compte de ce paramètre. Cependant, pour ce qui est de notre étude, la babésiose étant endémique en Camargue, l'étalement de la période de prélèvement n'a pas fait varier la prévalence de la maladie.

4.1.4 LES QUESTIONNAIRES

Un premier point de discussion concerne le contenu des questionnaires eux-mêmes : les questionnaires ont été mis au point avant tout pour la recherche de facteurs de risque de la maladie de West Nile, il semble évident que s'il s'était limité aux facteurs de prévalence de la babésiose, les données concernant tous les oiseaux (réservoirs du virus West Nile) et tous les points d'eau (gîtes larvaires des moustiques) auraient été moins détaillés. Par contre, il est regrettable qu'aucun renseignement n'ait été fourni quant à la présence de tiques sur les chevaux, ni sur les moyens de lutte utilisés contre eux. On peut cependant supposer que la lutte contre les moustiques, réalisée en grande majorité avec des insecticides du type pyréthrynoïdes, ait aussi eu une efficacité, au moins partielle, contre les tiques.

Ensuite, il est intéressant de commenter la collecte des données : la totalité des questionnaires chevaux et environnement ont été remplis, tous les chevaux participant à l'étude ont été identifiés et toutes les écuries localisées. Les données manquantes à l'échelle du cheval correspondent à des questionnaires partiellement remplis (par biais de mémoire notamment sur le délai d'acquisition ou le lieu de naissance de l'animal par exemple) ou des résultats de sérologie manquants suite à un problème du laboratoire ayant effectué les analyses. Par ailleurs, nous nous sommes heurtés à de grosses difficultés lors de la description de l'environnement des chevaux. Nous avons défini au départ l'environnement par un rayon de 500m autour des chevaux or dans la zone étudiée, la superficie à disposition des chevaux est extrêmement variable (de 0 à plus de 400 hectares). Ainsi, si la description de l'environnement est relativement aisée lorsque cette superficie est faible, elle est bien plus complexe lorsque les chevaux disposent de parcs de plusieurs centaines d'hectares. Dans ce second cas la notion même d'environnement se complique : est-ce l'environnement « autour des parcs », ou bien à « l'intérieur » de ceux-ci, sachant qu'alors cet environnement, sur de telles surfaces est bien souvent très varié. Pour pallier à ce biais de classification, lorsque la superficie à disposition des chevaux dépassait un hectare, nous avons inclus les caractéristiques de cette surface dans la description de l'environnement.

De plus certains animaux sont déplacés au cours de l'année dans des endroits dont les milieux varient. Nous avons dans ce cas noté les coordonnées GPS du lieu où se trouvent les chevaux de Mars à Novembre, et lorsque celui-ci variait, nous avons pris celles du milieu le plus humide et où les chevaux résidaient le plus longtemps.

4.2 PREVALENCE DE LA BABESIOSE EN CAMARGUE COMPAREE AUX AUTRES REGIONS DU MONDE

Avant toute chose, il est important de rappeler que la population de chevaux sur la planète s'élève approximativement à 120 millions de têtes, et que sur ces 120 millions, seulement 10% vivent en territoire indemne de babésiose (59).

Afin de comparer la prévalence observée dans notre étude aux études réalisées récemment dans les autres régions du monde, les résultats obtenus en Camargue sont rappelés ici : 460 sérums ont été testés, 67,2% des chevaux sont porteurs de *B. equi* et 22,8% de *B. caballi*. Par ailleurs, 20,6% présentent une réaction positive aux deux babesi, 46,5% ne sont positifs qu'à *B. equi* et 2,2% ne présentent de positivité qu'à *B. caballi*.

Si on s'intéresse aux écuries, 93% sont positives à *B. equi* et 50% à *B. caballi*. 4% des écuries seulement sont négatives aux deux babesi, 46% sont positives aux deux babesi, 3% ne le sont qu'à *B. caballi* et 46% qu'à *B. equi*.

A l'heure actuelle, les études épidémiologiques portant sur la babésiose sont nombreuses dans certains pays comme au Brésil dans lequel nous disposons de quatre publications en 1999 (29) (37) (52) (55). Les autres études récentes ont été réalisées en Israël en 1998 (60), en Mongolie (3) et en Chine (74) en 1997. Des articles plus anciens s'intéressent à la prévalence de la babésiose en Colombie en 1988 (69) et une étude parue en 2002 utilise des sérums prélevés au Japon entre 1971 et 1973 (37).

Pour ce qui est de l'Amérique du Sud, la babésiose sévit à l'état endémique, voir hyperendémique comme en Camargue. En effet, en Colombie, dans la province de Cordoba, 82 chevaux ont été testés par immunofluorescence indirecte (IFI). 90% d'entre eux présentaient une séropositivité envers *B. caballi* et 94% envers *B. equi*. A Rio de Janeiro au Brésil, en avril 1991, 120 chevaux ont été testés, 90,6% étaient porteurs de *B. equi* (méthode IFI) et 59,4% étaient porteurs de *B. caballi* (méthode Western Blot) (52). A Minas Gerais au Brésil encore, sur les 399 chevaux testés, 60,4% étaient positifs à *B. equi* (méthode IFI) (55). Enfin, à Sao Polo au Brésil toujours, 63 mères et 77 poulains ont été testés. 49,2% des mères étaient positives à *B. equi* et 79,4% à *B. caballi* (méthode IFI). Pour les poulains, 36% étaient porteurs de *B. equi* et 100% porteurs de *B. caballi* (29). Dans cette dernière étude, il est intéressant de noter que le nombre de chevaux porteurs de *B. caballi* est plus important que le nombre des porteurs de *B. equi*. A Sao Polo, *B. caballi* est donc plus répandu que *B. equi*, ce qui diffère de la répartition classique de ces deux parasites.

Outre l'observation de la prévalence de la maladie dans ces régions, ces différentes études ont mis en évidence des facteurs de risque. Ainsi, à Sao Polo, la présence de bétail auprès des chevaux est associée à une prévalence supérieure du portage des deux babesi. Cette observation est comparable aux résultats que nous avons obtenus en Camargue. Dans une autre étude réalisée au Brésil sur 720 chevaux de 28 écuries différentes (37), on rencontre là aussi les plus forts taux de prévalence de babésiose dans les fermes où se trouve du bétail. Dans cette dernière étude deux types d'écuries sont comparées. Dans les premières, aucun moyen n'est mis en place pour lutter contre les tiques ; dans les secondes, une solution de deltaméthrine à 25 mg/L est pulvérisée sur les chevaux toutes les trois semaines pendant toute la durée du printemps et de l'été, et les terrains sont aussi traités avec des acaricides selon une périodicité non précisée. Les résultats sont les suivants : dans les écuries n'ayant pas de contrôle de la population de tiques, 52,7% des chevaux sont positifs à *B. equi* et 15,5% le sont à *B. caballi* (méthode de FC). Dans les écuries ayant mis en place des programmes de lutte, seulement 9,4% des chevaux sont positifs à *B. equi* et 1,9% le sont à *B. caballi*. Dans cette étude, le contrôle de la population de tiques limite donc considérablement la contamination des chevaux. On pourrait en conséquence conseiller aux éleveurs en Camargue de mettre en place de tels programmes s'ils souhaitent limiter le portage de babesi dans leurs effectifs.

Si l'on s'intéresse maintenant à l'étude réalisée en Israël, sur 361 chevaux testés envers *B. equi* par IFI, le tiers de l'effectif est positif. La prévalence est donc moins élevée qu'en Camargue. Dans cette étude, les chevaux ayant accès à des prés sont significativement plus atteints que les autres, et les étalons (19% de positifs) semblent plus protégés que les juments (38%) ou que les hongres (42%). Ces constatations sont similaires à celles que nous avons pu observer en Camargue. Nous évoquerons dans le chapitre suivant des explications possibles des résultats que nous avons obtenus.

En Mongolie, l'étude réalisée sur 110 chevaux révèle un très fort taux de prévalence pour *B. equi* et *B. caballi* (88,2% et 84,5% respectivement ; méthode IFI). Il est aussi précisé que les chevaux développant une babésiose clinique sont très rares, ce qui est habituel dans une zone d'hyperendémie.

En chine, *B. caballi* et *B. equi* sont toutes les deux présentes sur le territoire mais dans de faibles proportions. On observe alors des formes sporadiques de la maladie ou, beaucoup plus grave, de véritables épidémies dont les conséquences peuvent être catastrophiques. Durant l'été 1996 par exemple, 1000 chevaux sont morts de babésiose dans le Comté de Zhang et 2000 dans la Province de Gansu. Après de telles épidémies, on comprend mieux pourquoi les pays indemnes prennent des mesures drastiques pour empêcher l'introduction de chevaux porteurs sur leur territoire. On peut aussi se demander si une lutte acharnée destinée à éradiquer les babesi en zone d'endémie est un objectif à poursuivre.

Enfin, une étude réalisée en 2002 au Japon sur 2019 sérums prélevés entre 1971 et 1973 montre que 5,4% des sérums étaient positifs à *B. caballi* et 2,2% à *B. equi*. Depuis 1973, il a été démontré que des tiques vectrices étaient présentes au Japon mais aucune infection autochtone n'a jamais été mise en évidence jusqu'à aujourd'hui. Cette observation étant pour le moins étrange, il serait intéressant d'étudier le statut sérologique actuel des chevaux sur cette île.

4.3 FACTEURS DE RISQUE ET FACTEURS PROTECTEURS MIS EN EVIDENCE GRACE A L'ANALYSE BIVARIEE

Le grand nombre de tests réalisés, du fait du nombre de variables analysées, a pour conséquence qu'il est possible de trouver des relations significatives alors qu'elles n'existent pas. Cependant ce grand nombre de variables était indispensable, car nous n'avons pu recueillir dans la littérature de liste des facteurs les plus représentatifs du milieux camarguais.

4.3.1 A L'ECHELLE INDIVIDUELLE

Bien que nous ne puissions pas dissocier dans notre étude le travail des taureaux, de la race Camargue, de la présence d'une peau claire, de la localisation 93 et de la vie dans les marais, il semblerait logique, d'après l'épidémiologie théorique de la maladie, que ce soit la vie dans les marais qui prédispose cette sous-population à un portage chronique de *B. caballi* ou de *B. equi*. En effet, les marais sont des gîtes à tiques vectrices. Les chevaux y vivant à longueur de temps ont donc plus de risques de rentrer en contact avec les vecteurs qui peuvent alors leur transmettre les babesi.

Les prés étant aussi des gîtes à tiques, on peut supposer que comme pour les chevaux vivant dans les marais, ces chevaux sont prédisposés par rapport aux autres au portage de l'une ou l'autre des babesi.

A contrario, les chevaux de club, de compétition, de course ou de dressage, ayant une robe baie, vivant en box ou en paddock, présentant une vaccination régulière, passant moins de 25% du temps en zone humide et étant nés hors de la zone d'étude représentent une sous-population protégée vis-à-vis du portage de *B. equi*. Il est impossible de dissocier ces éléments dans notre étude statistique mais nous pouvons quand même émettre des hypothèses sur les

facteurs les plus à même d'expliquer cela. Deux facteurs sont compatibles avec l'épidémiologie théorique :

- vivre en box ou en paddock limite le contact avec les tiques vectrices qui ne se développent pas sans végétation,
- être né hors de la zone d'étude pourrait être un facteur protecteur du fait de la prévalence extrêmement élevée du portage sur la zone d'étude. Dans l'hypothèse où le cheval viendrait d'une zone de faible prévalence, il aurait moins de risque d'être infesté avant son arrivée en Camargue, et du fait qu'il vivrait en box ou en paddock, il ne se contaminerait pas.

En ce qui concerne les chevaux reproducteurs, nous avons vu que les juments étaient majoritaires dans cette catégorie. On peut alors émettre l'hypothèse que le caractère reproduction est associé à des femelles gravides ou allaitantes. Or on sait que le stress lié à la mise bas et à l'allaitement provoque une diminution de l'immunité. Ce stress pourrait être une explication du portage de *B. equi* significativement plus élevé chez les reproducteurs que dans les autres activités.

Une diminution de l'immunité pourrait aussi expliquer un portage de *B. caballi* significativement plus élevé chez les chevaux les plus âgés, qui ont été regroupés dans la catégorie « chevaux de plus de 20 ans ».

Il est intéressant de noter que la vermifugation régulière est un facteur protecteur contre le portage des deux babesi. Dans l'hypothèse où l'analyse multivariée confirmerait cette observation, une explication pourrait être trouvée dans les programmes de vermifugation conseillés par les vétérinaires aux éleveurs. En effet, on préconise d'utiliser des avermectines au printemps et à l'automne afin d'éliminer les larves de strongles en migration à ces périodes-là. Or les avermectines sont des endectocides actifs aussi sur les tiques vectrices dont les périodes d'activité sont similaires. L'utilisation d'ivermectine pourrait alors provoquer la mort de la tique avant qu'elle n'ait pu transmettre la babesia.

En revanche, l'épidémiologie théorique ne permet pas d'émettre d'hypothèses expliquant une prévalence supérieure du portage de *B. equi* chez les chevaux hongres, ou ayant une robe alezane. Elle ne permet pas non plus de justifier que les caractères « entier », « robe baie » et « vaccination régulière » soient des facteurs protecteurs potentiels vis-à-vis de *B. caballi*.

Pour chacun de ces caractères, trois possibilités existent alors :

- soit ce caractère est propre à la population étudiée, on aurait alors une différence avec l'épidémiologie théorique qu'il serait intéressant d'objectiver dans une étude complémentaire,
- soit le caractère est un facteur de confusion, l'analyse multivariée devrait permettre de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse,
- soit la différence observée dans l'analyse statistique est liée au hasard, ce qui est possible du fait du grand nombre de variables analysées. Dans toute analyse statistique, quand on compare deux facteurs, il est nécessaire de se demander si la relation mise en évidence par un test statistique peut trouver une signification biologique, s'il existe une relation de cause à effet entre les deux facteurs. Si tel n'est pas le cas, c'est que la relation trouvée est liée au hasard.

4.3.2 A L'ECHELLE DES ECURIES

Quand on s'intéresse aux facteurs de risque mis en évidence pour les écuries, il est rassurant de s'apercevoir qu'ils sont en accord avec les résultats obtenus à l'échelle individuelle :

- la présence de vaches dans les écuries est un facteur de risque potentiel pour les deux espèces de babesi. Cela est compatible avec le fait qu'à l'échelle individuelle, le travail des taureaux est aussi un facteur de risque potentiel,
- les écuries de la localisation 93 sont aussi associées à la présence de marais et prairies inondées, ce qui constitue là aussi un facteur de risque vis-à-vis de *B. caballi*.

Les hypothèses que l'on peut formuler pour expliquer les différences de prévalence observée pour ces facteurs sont alors les mêmes que dans le paragraphe précédent.

Un des facteurs de risque intéressant à considérer en ce qui concerne le portage de *B. caballi* est le turn-over de plus de cinq chevaux par ans. En effet, les écuries dans lesquelles plus de cinq chevaux sont introduits chaque année sont significativement plus atteintes que les autres. Dans le cas où l'analyse multivariée confirmerait cette affirmation, une explication pourrait être que l'introduction fréquente de chevaux de statuts sérologiques inconnus augmente le risque d'introduire *B. caballi* au sein de l'effectif. Or les chevaux porteurs sont des réservoirs potentiels susceptibles d'infecter les tiques présentes dans l'écurie. Ce sont ces mêmes tiques qui transmettront la babesia aux autres chevaux de l'effectif. Le respect d'une période de quarantaine serait donc à conseiller aux propriétaires d'écuries s'il souhaitent éviter la contamination de leur effectif.

En revanche, comme dans le paragraphe précédent, pour certains facteurs comme la présence d'aigrettes ou de garde-bœufs, l'épidémiologie théorique ne permet pas d'émettre d'hypothèses expliquant une prévalence supérieure du portage de *B. caballi* dans ces écuries. On se retrouve alors avec les trois mêmes possibilités :

- soit ce caractère est propre à la population étudiée, on aurait alors une différence avec l'épidémiologie théorique qu'il serait intéressant d'objectiver dans une étude complémentaire,
- soit le caractère est un facteur de confusion, l'analyse multivariée devrait permettre de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse,
- soit la différence observée dans l'analyse statistique est liée au hasard, ce qui est possible du fait du grand nombre de variables analysées.

Le faible nombre de facteurs de risque mis en évidence pour *B. equi* trouve sans doute une explication dans le manque de sensibilité du test statistique. En effet, il existe un très grand nombre d'écuries positives (n=93/100) et un très faible nombre d'écuries négatives (n=7/100). Du fait du très faible nombre d'écuries négatives, le test statistique n'arrive pas à mettre en évidence de différence significative entre les écuries positives et les écuries négatives pour un facteur donné. Cela ne signifie pas qu'il n'existe pas de différence entre les écuries, c'est simplement qu'il aurait fallu un échantillon d'écuries plus important pour pouvoir mettre en évidence ces différences.

4.3.3 COMMENTAIRE QUANT A L'ABSENCE DE CORRELATION SIGNES CLINIQUES/POSITIVITE

Lorsque l'on s'intéresse à la présence ou l'absence de maladies récentes à l'échelle individuelle, ou à la présence ou l'absence de signes cliniques pouvant être associés à la babésiose à l'échelle des écuries, on s'aperçoit qu'il n'existe pas de différence significative pour chacun de ces facteurs vis-à-vis du portage de babesi. Ce résultat est intéressant à prendre en considération. En effet, c'est en général en zone de faible endémie ou en zone indemne, lors d'épidémie de babésiose, que l'on rencontre des chevaux malades.

Pour notre étude en Camargue, si la prévalence du portage de babesi avait été moins forte, on aurait dû mettre en évidence lors de l'analyse statistique une corrélation entre le facteur « signes cliniques pouvant être associés à la babésiose » et « positivité à *Babesia caballi* ou *Babesia equi* » ou bien une corrélation entre le facteur « maladie récente » et « positivité à *Babesia caballi* ou *Babesia equi* ». Or ce n'est pas le cas, ce qui confirme que la Camargue est bien une zone d'endémie, voir d'hyperendémie de babésiose.

4.4 APPLICATION PRATIQUE A LA LUTTE CONTRE LA BABESIOSE EN CAMARGUE

Après avoir étudié les facteurs de risque de la babésiose dans cette région, il paraît intéressant d'étudier et de proposer des méthodes de lutte contre cette maladie. Une question importante se pose alors : souhaite-t-on totalement éradiquer le portage des babesi dans la région où souhaite-t-on simplement limiter le nombre de chevaux malades ?

Pour limiter le nombre de chevaux malades, Donnelly en 1982 (19) conseillait de mettre les chevaux en contact avec le parasite le plus rapidement possible après la naissance. Ainsi, les anticorps maternels transmis via le colostrum évitaient au poulain de présenter des symptômes cliniques de la maladie. Le poulain devenait de ce fait porteur chronique avec une bonne immunité de prémunition. Cette méthode paraît aujourd'hui caduque au vu des problèmes de commerce et de transport des animaux porteurs chroniques de babesi.

On doit alors chercher à éradiquer les babesi du territoire en question. Pour cela, plusieurs méthodes complémentaires peuvent être utilisées afin d'éviter d'une part la contamination des chevaux sains, et d'éliminer d'autre part le portage chronique des chevaux atteints.

4.4.1 MEDICATIONS A DISPOSITION

4.4.1.1 TRAITEMENT DES CHEVAUX PORTEURS CHRONIQUES

Chez les chevaux porteurs de *B. caballi*, il semble que deux injections d'imidocarbe (CarbésiaND) à une posologie de 2mg/kg par voie intramusculaire profonde permettent de stériliser le sujet (22) (40). Cependant, ces études présentent des limites. En effet, la disparition des anticorps anti-*B. caballi* est objectivée grâce au test de fixation du complément. Or ce test manque de sensibilité ; des études complémentaires seraient donc nécessaires pour vérifier cette affirmation.

En ce qui concerne *B. equi*, l'imidocarbe n'est actif que sur les formes endo-érythrocytaires du parasite, et ce à une posologie de 5mg/kg à raison de deux injections à 72 heures d'intervalle (15) (25) (40) (43).

D'après les travaux de Kuttler et col. (42) (43), l'imidocarbe ne serait actif que sur les piroplasmes et inefficace sur les schizontes, ce qui expliquerait les échecs thérapeutiques et l'impossibilité de stériliser complètement des chevaux avec ce seul principe actif.

Il semble par contre que la buparvaquone (ButalexND) utilisée à une posologie de 4 à 6 mg/kg par voie intramusculaire ou intraveineuse soit active sur les schizontes et donc sur les formes endo-lymphocytaires de *B. equi* (43) (77) (78), mais on rencontre à l'heure actuelle des difficultés pour se la procurer en France.

Suite à ces études, on a donc proposé une association d'imidocarbe et de buparvaquone qui permettrait de stériliser les chevaux contre *B. equi*. Cependant, aucune étude clinique n'a encore été réalisée pour confirmer cette hypothèse.

4.4.1.2 CHIMIOPREVENTION

Chez les chevaux sains, l'injection d'imidocarbe (CarbesiaND) deux fois à 72h d'intervalle confère une protection de trois à quatre semaines contre *B. caballi* (65) (15). Cela peut s'avérer utile lors de déplacement en zone à risque pendant une randonnée, une compétition de plusieurs jours, etc. Cette méthode prophylactique semble cependant inefficace contre *B. equi* (64), un traitement topique acaricide pouvant alors être appliqué en complément (11).

L'utilisation de la vaccination pourrait être intéressante mais alors qu'il existe des vaccins contre la babésiose dans les autres espèces, en particulier chez le chien, aucun n'est encore disponible chez les équidés. Plusieurs tentatives ont pourtant été réalisées notamment par Singh en 1981 (63) qui utilisa un vaccin composé de corps tués de *B. caballi*. Après une primo-vaccination de deux injections à 15 jours d'intervalle, il inocula la babesia 65 jours après la primo-vaccination. Aucun signe clinique ne fut alors observé mais l'immunité ainsi mise en place fut de courte durée. Avec les nouvelles techniques dont nous disposons à l'heure actuelle du type vaccin recombinant, il serait alors peut-être intéressant de se pencher sur la question. Cependant, au vu de la protection mise en place chez un poulain issu d'une mère infectée, qui lui évite de développer une forme clinique de la maladie, mais qui n'empêche pas le portage, on peut se demander si l'immunité issue de la vaccination pourrait permettre quant à elle, une protection contre l'infection.

4.4.2 LUTTE CONTRE LES TIQUES (34)

La possibilité de stérilisation des chevaux porteurs étant hypothétique, le meilleur moyen de lutter contre la progression de la maladie reste la lutte contre sa transmission, et donc contre les tiques vectrices. Cette lutte peut avoir lieu soit lors de la vie libre de la tique en déparasitant l'environnement des écuries, soit lors de sa vie parasitaire en traitant les chevaux avant que la tique ne leur transmette les babesi.

4.4.2.1 DURANT LA VIE LIBRE DE LA TIQUE

Il est nécessaire d'entretenir les pâtures, de détruire les broussailles et autres genêts, ronciers, qui sont autant de gîtes pour les tiques. En diminuant le nombre de vecteurs, on limitera du même coup le potentiel de transmission (34).

Le traitement de l'environnement à l'aide d'acaricides, comme cela a été réalisé lors des Jeux Olympiques d'Atlanta ne paraît pas envisageable chez les particuliers du fait du coût du traitement. La lutte contre les tiques durant leur vie parasitaire semble donc une meilleure solution.

4.4.2.2 LORSQUE LA TIQUE EST ACCROCHEE SUR LE CHEVAL

L'utilisation régulière d'acaricides de type pyréthrinND des sur tout le corps du cheval, en insistant sur les parties les plus en contact avec le sol (membres, tête) permet d'éviter la contamination. Cependant, l'application répétée de tels principes actifs sur la peau du cheval peut provoquer des irritations. De plus, une résistance acquise aux acaricides apparaît à l'heure actuelle chez les tiques, ce qui est un facteur limitant de cette méthode de prophylaxie (44).

Dans notre étude, il n'existe pas de différence significative entre les chevaux traités ou non contre les moustiques à l'aide d'insecticides. Cette lutte n'étant pas dirigée spécifiquement contre les tiques, elle n'est pas efficace en l'état pour éviter toute contamination. Les insecticides utilisés étaient pourtant acaricides : les éleveurs utilisaient en effet des pyréthrinND des comme le ButoxND (deltaméthrine), le ColtrimeND (deltaméthrine), la StomoxineND (perméthrine), l'EctotrineND (cyperméthrine), l'AcadrexND (fenvalérate). Certains utilisaient aussi des carbamates comme le TigalND (carbaryl).

Cette méthode doit donc se limiter au chevaux sains lors de leur transport en zone à risque (12) (65).

4.4.3 METHODES D'ELEVAGES ET LUTTE CONTRE LA TRANSMISSION DE LA BABESIOSE

Dans notre étude, le fait d'introduire plus de cinq nouveaux chevaux par an dans une écurie est un facteur de risque pour *B. caballi*. Afin de prévenir l'introduction et le développement d'une telle maladie, le respect d'une période de quarantaine pour les chevaux nouvellement introduits et la réalisation d'un test de dépistage de la babésiose durant cette période peuvent donc être conseillés aux éleveurs.

En considérant toutes ces méthodes de lutte, il apparaît clairement qu'aucune n'est efficace totalement et c'est une combinaison de plusieurs d'entre elles qui permettra de diminuer la prévalence de la babésiose en Camargue. Quoiqu'il en soit, il n'est pas évident que malgré tous les efforts que pourraient réaliser les éleveurs, la maladie soit un jour totalement éradiquée d'une telle région. En Floride en effet, des moyens importants ont été mis en place depuis 1959 pour éliminer les babesi importées lors de l'introduction de chevaux porteurs cette année-là (12). Le constat de ces quarante années de lutte est que la maladie sévit encore à l'état endémique dans cette région.

CONCLUSION :

Cette étude, inscrite dans une enquête de plus grande envergure a été motivée par le souhait des propriétaires de chevaux de connaître le statut sérologique de leur chevaux vis-à-vis de la babésiose. Elle a été réalisée entre 2001 et 2002 sur 488 chevaux de Camargue.

Dans notre travail, nous avons tout d'abord présenté l'épidémiologie théorique de la babésiose, ce qui permettait de mieux comprendre les choix du protocole d'étude. Ensuite, nous avons décrit la population des chevaux ainsi que la prévalence et les facteurs de risque de la maladie dans cette région grâce aux données relevées sur les questionnaires et à l'analyse des prélèvements. Enfin nous avons commenté les différents éléments de l'étude, du protocole utilisé jusqu'aux applications pratiques pour les propriétaires de chevaux.

Nos conclusions sont les suivantes : la prévalence de la babésiose atteint 22,8% pour *B. caballi* et 67,2% pour *B. equi*. La Camargue est donc une zone de forte endémie.

On retrouve des facteurs de risque comparables à ceux mis en évidence lors des études récentes réalisées à l'étranger sur ce sujet. Ainsi, le fait de vivre au pré, qui apparaît comme un facteur de risque pour la maladie, et l'absence de signes cliniques dans cette zone d'endémie sont tout à fait compatibles avec l'épidémiologie théorique.

Certains éléments tels que la vermifugation régulière des chevaux, facteur protecteur, trouvent aussi une explication rationnelle, mais d'autres comme le caractère hongre (qui semble prédisposer à une infection à *B. equi*) ou le fait d'être entier (qui semble protéger d'une infection à *B. caballi*) restent à confirmer.

Cette étude aura permis de faire le point sur une maladie bien connue des vétérinaires et des propriétaires de chevaux. Etant donnée l'importance de la prévalence de la babésiose en Camargue, on peut conseiller aux vétérinaires praticiens, en cas de suspicion de babésiose chronique, de traiter les chevaux avec de l'imidocarbe (CarbésiaND) sans qu'ils n'aient besoin d'un diagnostic de laboratoire en première intention. Il sera cependant intéressant de se pencher sur les résultats à venir de l'analyse de la prévalence et des facteurs de risque de l'ehrlichiose et de la borreliose dans cette région, car les symptômes des formes chroniques de ces maladies rappellent ceux de la babésiose. En cas de forte prévalence de l'une ou l'autre de ces maladies, il faudrait alors que les vétérinaires praticiens effectuent un diagnostic différentiel entre ces trois maladies car le traitement diffère pour chacune d'elles.

La babésiose équine, pathologie très répandue en France, posera donc encore longtemps des problèmes aux acteurs du « monde du cheval ». Les études épidémiologiques sur le sujet ont alors à mon sens un bel avenir devant elles.

ANNEXES

Annexe 1 : cliniques vétérinaires participant à l'étude.

	<i>Nom</i>	<i>Dép</i>	<i>Ville</i>	<i>Adresse</i>	<i>Téléphone</i>	<i>Fax</i>
10	CROUZET	30220	Aigues Mortes	10 Rue Alphonse Daudet	04 66 53 88 00	04 66 53 85 90
11	POULY CANTON	30660	Gallargues le Montueux	Route de Lunel	04 66 88 81 84 04 66 35 10 09	04 66 35 49 84
12	DELEAU	30127	Bellegarde	12 R de la République Beroncelli	04 66 01 07 41	04 66 01 08 49
13	BEL	13140	Miramas	17 place Jourdan	04 90 50 14 77	04 90 58 28 27
14	LEOST	34130	Mauquio	304 Av Gabriel Aldié	04 67 29 55 03	04 67 12 00 15
15	BLANC BRILLARD DUPRAT	30300	Beucaire	44 Av Farciennes	04 66 59 13 06	04 66 59 62 48
17	GANEM	13550	Noues	720 ch des Crêtes	06 20 58 03 12	
18	WEINGARTEN-13460 BRUESCHWEILER Salomé		Stes Marie de la Mer	Les Cabanes de Cambon	04 90 97 78 69	04 90 97 78 60
19	CASTAN	34670	Baillarques	319 R des Ecoles	04 67 70 04 30	
20	GARCIA PRIAULET DUFAC	13310	St Martin de Crau	8 R de la Laure	0490473534	0490471156
21	MAERTEN	34400	Lunel	Av Abrivados	0467832691	0464831819
22	GERME SACCO VACHEY	13200	Arles	5 R Emille FASSIN	0490960200	0490499693
23	BON	13122	Ventabren Vences	les Bois de	04 42 92 30 51	04 42 92 30 46
24	PELISSIER BALMER	30190	Sauzet	Ch font Barjaret	04 66 81 74 22	04 66 81 70 21
25	LEGRIS	34130	Mauguio Marronniers	1 Allée des	04 67 29 59 99 06 03 12 94 97	
26	BLAIZOT	34400	Lunel	15 Bd St Fructueux	04 67 71 51 92	

Annexe 2 : compte rendu de la réunion d'information du 30 octobre 2001

ETUDE WEST NILE CHEZ LE CHEVAL EN CAMARGUE **Compte rendu de la réunion d'information du 30 octobre 2001**

Objectif

- L'objectif principal est la recherche de l'existence ou non d'une zone d'endémie de la maladie de West Nile dans les zones humides de la région de la Camargue.
- L'objectif secondaire est la recherche des facteurs d'exposition liés à l'environnement des chevaux.

Principe

Les chevaux participant à l'étude subiront une prise de sang tous les 6 mois à un an en fonction des résultats de la première étude.

Zone géographique considérée

A l'ouest : Mauguio, Aigue Vive, Baillargue

Au nord : Tarascon, Beaucaire

A l'est : Saint Martin de Crau, Port Saint Louis

Au sud : Mer

Analyses effectuées

Plusieurs analyses seront réalisées de manière totalement GRATUITE.

West Nile	IgG : indicateur d'un contact ancien avec le virus IgM : indicateur d'un contact récent (3 à 4 mois) avec le virus
Babésiose	Sérologie IgG PCR
Ehrlichiose	PCR Sérologie (modalités à préciser)
Borréliose	PCR

L'anonymat

L'anonymat strict ainsi que la confidentialité totale des résultats sont assurés.

L'identification des chevaux participant à l'étude est définie par un numéro à 6 chiffres. Ce numéro est composé de :

2 chiffres correspondant au vétérinaire prélevant,

2 chiffres correspondant à l'établissement,

2 chiffres correspondant à chaque animal.

Les numéros d'identifiant seront apposés sur les tubes de prélèvement et sur le questionnaire cheval au moment de la réalisation de la prise de sang ; seul les tubes seront envoyés au laboratoire, identifiés par ce simple numéro.

Les fiches portant le lien entre ces codes et l'identité du cheval ou de l'établissement seront regroupées et conservées par Agnès Leblond de l'Ecole Vétérinaire de Lyon. En aucun cas cette identité ne pourra être révélée à une autre personne que le vétérinaire traitant ou le propriétaire en cas de positivité d'une ou l'autre des sérologies effectuées.

Les chevaux sélectionnés doivent

Etre nés, élevés et vivre toute l'année dans la zone précédemment définie, ou bien y résider en permanence depuis au moins deux ans.

Passer de préférence une partie de l'année en zone humide (un minimum de 3 à 6 mois comprenant la période estivale) , c'est à dire à proximité de marais ou marécage.

Ne pas ou peu se déplacer : rester dans la zone étudiée pendant la période chaude à risque.

Etre représentatif de l'effectif des chevaux au sein duquel il se trouve (Race, Sexe, Age..). RQ, le critère « cheval testé en 2000 » ne doit être ni un critère de sélection, ni un critère d'exclusion.

Récolte des données

Fourniture du matériel

Le matériel sera fourni par le laboratoire MERIAL.

Chaque vétérinaire reçoit en fonction du nombre X de chevaux à prélever et Y d'établissement concernés :

- 2X tubes sec et X tubes EDTA,
- X feuilles de questionnaire « cheval »

Y feuilles d'information « propriétaire », feuilles qui expliquent le principe de l'étude aux propriétaires acceptant de participer à l'étude, rappelant le calendrier de celle-ci et donnant le nom et les coordonnées de leurs interlocuteurs, Agnès Leblond, Marie-Aude Heng et Julien Guillot, afin qu'ils puissent avoir des réponses aux questions qu'ils pourraient se poser.

Y fiches de consentement éclairé.

1 contrat Merial nécessaire par la suite pour le versement des honoraires.

Une carte délimitant la zone étudiée et vous indiquant au sein de cette zone les établissements et le nombre de chevaux par établissement à prélever.

Un guide de procédure.

Prise de sang et remplissage du questionnaire « cheval » réalisés par le VETERINAIRE PRATICIEN

La réalisation des prises de sang sera effectuée par chacun des vétérinaires participant à l'étude, accompagné ou non de Julien Guillot.

Pour chaque cheval prélevé devront être rempli :

2 tubes secs

1 tubes EDTA

un questionnaire « cheval »

Pour chaque établissement concerné un consentement éclairé devra être signé par le responsable.

Le nombre de prise de sang et la localisation des chevaux prélevés ont été établis à la suite de la réunion d'information du 30 octobre.

La récolte des informations concernant le cheval prélevé, questionnaire « cheval », sera réalisée par le vétérinaire au moment de la prise de sang.

Le codage des prélèvements se fera automatiquement grâce à des fiches et des étiquettes.

Le stockage momentané des tubes non centrifugés au réfrigérateur (ou au congélateur pour les tubes EDTA) sera réalisé par le vétérinaire.

Gestion des envois des échantillons réalisée par Julien Guillot

Les tubes que vous aurez au préalable réfrigérés (tubes secs) ou congelés (tubes EDTA), seront récupérés par Julien Guillot soit une à deux fois par semaine, soit à la demande des vétérinaires qui l'appelleront sur son portable .

Les envois seront groupés par 40 après centrifugation des tubes à prélèvement par Julien Guillot au laboratoire ; ces envois seront à la charge du laboratoire MERIAL.

Remplissage du questionnaire « environnement » réalisé par Julien Guillot, Marie-Aude Heng et Sophie Pradier

Un questionnaire « environnement » sera rempli sur entretien qui aura lieu avec le propriétaire ou le responsable de l'établissement concerné. Ce dernier vise à récolter des informations concernant la population de chevaux et son milieu de vie. Deux enquêteurs réaliseront ces visites dans un second temps, Julien Guillot, Marie-Aude Heng ou Sophie Pradier. Ainsi, afin de faciliter le recueil de ces informations, merci de bien vouloir prévenir les propriétaires d'un deuxième passage de notre équipe.

Calendrier

Rédaction du protocole : du 1 octobre au 1 novembre 2001.

Réunion d'information des vétérinaires participants à l'étude, et prise en compte de leurs remarques : 30 octobre 2001.

Modification du protocole général : 30 octobre au 10 novembre 2001.

Finalisation du protocole de prélèvement

Edition des questionnaires et des étiquettes

Commande des tubes à prélèvement

Finalisation des envois et analyse des échantillons

Réalisation des prélèvements sanguins et recueil des données « cheval » : du 12 novembre au 30 décembre.

Recueil des données « environnement » : du 1 janvier 2002 au 1 mars 2002.

Analyse des prélèvements sanguins : du 1 janvier 2002 au 1 mars 2002.

Envoi des résultats aux vétérinaires concernés : du 1 mars au 30 mars 2002.

West Nile	IgM	Mars avril 2002
	IgG	Mars avril 2002
Babésiose	PCR	Mars avril 2002
	IgG	Avril mai 2002
Ehrlichiose	Sérologie	Avril mai 2002
	PCR	Avril mai 2002
Borréliose	PCR	Avril mai 2002

Résultat de l'enquête : 22 juin 2002

Personnes à contacter

Agnès LEBLOND, docteur vétérinaire, maître de conférence, département hippique
ENVL :

06 10 47 67 45

Marie-Aude HENG, docteur vétérinaire, étudiante en DEA méthode de recherche en
environnement et santé : 06 64 82 19 93.

Julien GUILLOT, étudiant vétérinaire en T1 Pro : 06 22 67 26 47 ou 06 16 72 37 36.

Annexe 3 : guide de procédure

Guide de procédure

Une pochette vous est remise par établissement ; une fois sur place :

- Vérifier sur la carte le nombre de chevaux à prélever

Faire remplir la feuille consentement éclairé et la récupérer

Fournir la feuille d'information aux propriétaires

Réaliser les prélèvements : 2 tubes secs et un tube EDTA par cheval et coller sur chacun d'eux l'étiquette correspondant au « questionnaire cheval »

Remplir un « questionnaire cheval » par cheval

Prévenir le propriétaire ou le responsable de l'établissement de la venue ultérieure d'un enquêteur (Marie-Aude ou Julien) qui remplira avec lui un « questionnaire environnement »

Mettre les tubes au frais le plus rapidement possible en attendant que Julien les récupère (Il passera soit une fois par semaine soit sur demande de votre part.).

Annexe 4 : questionnaire cheval

Ecole nationale Vétérinaire de Lyon

Questionnaire Cheval

Date / / 2001

Code
Coller l'étiquette ici

I) IDENTIFICATION

Vétérinaire

Responsable
Nom :
Adresse :
Tel :

Cheval
Nom :
Lieu de naissance :
Date d'acquisition :

II) CARACTERISTIQUES PHYSIQUES

Race (ou apparenté)

Camargue ☐

Trotteur Français ☐

Arabe ☐

Espagnol ☐

Pur-sang ☐

Poneys ☐

Selle Français ☐

AQPS ☐

Autre

Sexe

Femelle ☐

Hongre ☐

Entier ☐

Age

Couleur de la peau

Sombre ☐

Claire ☐

Couleur de la robe

Gris ☐

Alezan ☐

Bai ☐

Pie ☐

Noir ☐

Autre

Déplacement du cheval de Mars à Novembre Oui ☐ Non ☐, si oui :

	Dans la zone étudiée	Hors de la zone étudiée
Nombre de jours en déplacement	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Destination principale (3 max.)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
But	Randonnée <input type="checkbox"/> Compétition <input type="checkbox"/> Féria <input type="checkbox"/> Reproduction <input type="checkbox"/> Course <input type="checkbox"/> Autre <input type="text"/>	

VI) WEST NILE

Le cheval a-t-il été testé en 2000 Oui ☐ Non ☐, si oui quels étaient les résultats

IgG positif ☐ IgG négatif ☐
IgM positif ☐ IgM négatif ☐

Le cheval a-t-il montré un des signes suivants durant l'année 2001

Augmentation de l'appréhension ☐ Faiblesse des membres antérieurs ☐
Dépression ☐ Incapacité à se tenir debout ☐
Apathie ☐ Paralysie des membres ☐
Head shaking ☐ Parésie ☐
Paralysie flasque de la lèvre inférieure ☐ Autres
Ataxie ☐

Annexe 5 : questionnaire environnement

Ecole nationale Vétérinaire de Lyon

Questionnaire Environnement

Date / / 2001

Numéro d'identification

I) IDENTIFICATION DE L'ETABLISSEMENT

Enquêteur

Etablissement

Nom :
Adresse :
Tel :Fax :

II) GEOGRAPHIE

Localisation

Longitude

Latitude

Altitude

III) CHEVAUX

Nombre total d'équidés

Espèces	Nombre d'équidés
Cheval	
Poneys	
Ane	
Mule	
Autres <input type="text"/>	
TOTAL	

Logement

	Nombre de chevaux par type de logement	
	Jour	Nuit
Stalle ou box uniquement		
Stalle ou box +/- paddock		
Paddock sec uniquement		
Paddock sec avec abris		
Pâturage uniquement		
Pâturage avec abris		
Marais		
Marécage		
Autre		

West Nile en 2000

Nombre de cas cliniques		
Nombre de sérologies positives	Ig G :	Ig M :
Nombre de morts		
Date du premier cas		
Date du dernier cas		

Maladies récentes (depuis début 2001) : Symptômes rencontrés (nombre de chevaux)

Augmentation de l'appréhension	<input type="text"/>	Faiblesse des membres antérieurs	<input type="text"/>
Dépression	<input type="text"/>	Incapacité à se tenir debout	<input type="text"/>
Apathie	<input type="text"/>	Paralysie des membres	<input type="text"/>
Head shaking	<input type="text"/>	Parésie	<input type="text"/>
Paralysie flasque de la lèvre inférieure	<input type="text"/>	Autre	<input type="text"/>
Ataxie	<input type="text"/>		<input type="text"/>
Hyperthermie brutale et intense	<input type="text"/>	Anémie	<input type="text"/>
Ictère	<input type="text"/>	Broncho-pneumonie	<input type="text"/>
Œdème des membres	<input type="text"/>	Fourbure	<input type="text"/>
Diarrhée	<input type="text"/>	Avortement	<input type="text"/>
Colique	<input type="text"/>	Autre	<input type="text"/>

IV) AUTRES ANIMAUX DOMESTIQUES

Espèces	Nombre	Logement 1 : extérieur 2 : intérieur 3 : les deux	Distance par rapport aux chevaux
Vaches	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Moutons	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Chèvres	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Porcins	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Canards	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Poules	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Dindons	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Autre	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

V) OISEAUX

Sauvages : Existence de rassemblements d'oiseaux sauvages < 1 km

Oui ☐ Non ☐

Terrestres

Oui ☐ Non ☐

Aquatiques

Opportunistes

Oui ☐ Non ☐

Présence d'un abri pour les chevaux (écurie, barn....)

Oui ☐ Non ☐

Présence de nids

Nature des oiseaux	Nombre (<5, 5 à 20, >20)

Nombres d'oiseaux morts depuis mai 2000

Nature	Nombre	Résultat d'analyse

VI) MOUSTIQUES

Lutte contre les moustiques

	2 : Non,	1 : Oui	3 : pas d'abri
Protection des ouvertures			
Lutte mécanique (rubans,...)			
Lutte chimique			
Si oui, nombre de fois par jour		
à quel moment		

Zone de démoustication par l'EID proche de la propriété, distance

VII) ECOLOGIE

Nombre d'hectare mis à la disposition des chevaux de mars à novembre

Végétation présente dans cette zone

Roseraie ☐ Lisière de forêt ☐
 Rizièrre ☐ Haies ☐
 Prairie herbeuse ☐ Bocage ☐

Présence de source d'eau < 0,5 km

	Exemples	Distance par rapport aux chevaux
Eau permanente	Etang <input type="checkbox"/> , lac <input type="checkbox"/> , marais <input type="checkbox"/> , marécage <input type="checkbox"/> , rizièrre <input type="checkbox"/>	
Eau transitoire	Flaques <input type="checkbox"/> , trous <input type="checkbox"/> , canaux <input type="checkbox"/> , fossés <input type="checkbox"/> , zones irriguées <input type="checkbox"/>	
Zones inondables	Marais salés <input type="checkbox"/> , lit de rivière <input type="checkbox"/> , prairie humide <input type="checkbox"/>	
Eau courante en surface	Rivière <input type="checkbox"/> , cour d'eau <input type="checkbox"/> , source <input type="checkbox"/> , canaux d'irrigations.. <input type="checkbox"/>	
Container artificiel	Pneus <input type="checkbox"/> , bâche <input type="checkbox"/> , Abreuvoir automatique <input type="checkbox"/> Seau <input type="checkbox"/> , Abreuvoir <input type="checkbox"/>	

Annexe 6 : fiche d'information aux propriétaires

ETUDE WEST NILE CHEZ LE CHEVAL EN CAMARGUE

Fiche d'information aux propriétaires

Objectif

L'objectif de cette étude est double :

D'une part étudier la circulation du virus dans la population des chevaux de Camargue vivant dans les zones humides, en dehors des périodes d'épidémies ; c'est à dire rechercher la présence d'une zone d'endémie (où la maladie persiste à bas bruit, s'exprimant rarement et bien souvent de manière asymptomatique).

D'autre part rechercher les facteurs d'expositions associés à cette maladie ; existe-t-il des chevaux plus exposés que d'autres ? Si oui quels sont les facteurs environnementaux ou individuels concernés ?

Principe

Les chevaux participant à l'étude subiront une prise de sang une à deux fois par an, pendant un à deux ans, ce en fonction des résultats de la première étude. Les résultats seront transmis à votre vétérinaire gratuitement.

Analyses effectuées

Plusieurs analyses seront réalisées de manière totalement GRATUITE.

West Nile

IgG : indicateur d'un contact ancien avec le virus.

IgM : indicateur d'un contact récent (3 à 4 mois) avec le virus.

Piroplasmose

Sérologie IgG

PCR

Ehrlichiose PCR

Borréliose PCR (maladie de Lyme)

Résultats

La confidentialité des résultats sera totale, assurée grâce à un système de codage des prélèvements ; les tubes envoyés au laboratoire ne porteront aucun renseignement ni sur le cheval, ni sur l'écurie où il se trouve, ni sur son propriétaire.

Les résultats seront envoyés directement au vétérinaire ayant fait la prise de sang pour l'Ecole vétérinaire de Lyon.

Calendrier des résultats :

West Nile IgG IgM	Mars, avril 2002
Piroplasmose IgG PCR	Mars, avril 2002 Avril, mai 2002
Ehrlichiose : Sérologie PCR	Avril, mai 2002 Avril, mai 2002

Borréliose : PCR	Avril, mai 2002
------------------	-----------------

J'ai bien noté que l'ensemble des informations seront confidentielles, que je dispose d'un droit d'accès et de modification des données me concernant et que les résultats seront conservés et diffusés de manière totalement anonyme. Vous pouvez exercer ce droit d'accès en contactant un des responsables de l'étude.

Vos contacts

Le vétérinaire qui a réalisé la prise de sang.

Marie-Aude Heng (Docteur Vétérinaire, Etudiante en DEA) : 06 64 82 19 93

Julien Guillot (Etudiant en T1 PRO à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon) : 06 22 67 26 47 ou

06 16 72 37 36

Agnès Leblond (Docteur Vétérinaire, Maître de conférence, département hippique, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon 04 78 87 26 77 : secrétariat).

Annexe 7 : consentement éclairé des propriétaires ou des responsables d'écurie

ETUDE WEST NILE CHEZ LE CHEVAL EN CAMARGUE
**Consentement éclairé des propriétaires ou des responsables
d'écuries**

L'objectif de cette enquête est de confirmer ou d'infirmer l'hypothèse selon laquelle la maladie persisterait à bas bruit même en dehors des périodes d'épidémie et d'étudier les facteurs d'expositions environnementaux de cette maladie.

Au cours de cette enquête des prises de sang seront effectuées une à deux fois par an, pendant une ou plusieurs années en fonction des résultats de la première étude. Les résultats seront transmis à votre vétérinaire gratuitement.

Je soussigné, Madame, Monsieur.....,
résidant.....,
autorise les responsables de l'étude à utiliser les informations recueillies dans le cadre de leur étude.

J'ai bien noté que l'ensemble des informations seront confidentielles, que je dispose d'un droit d'accès et de modification des données me concernant et que les résultats seront conservés et diffusés de manière totalement anonyme.

Fait le
à.....

BIBLIOGRAPHIE

1. ALLSOPP M.T.E.P., CAVALIER-SMITH T., DE WAAL D.T., ALLSOPP B.A.
Phylogeny and évolution of the piroplasms. Parasitology, 1994, **108**, 147-152.
2. ATKINSON R. : Importation in shambles. Equus, 1979, **2**, 14,
3. AVARZED A., DE WAAL D.T., IGARASHI I., SAITO A., OYAMADA T., TOYODA Y., SUZUKI N. : Prevalence of equine piroplasmosis in Central Mongolia. Onderstepoort J Vet Res. 1997, **64**(2), 141-145.
4. BANERJEE D.P., SINGH B., GAUTAM O.P., SARUP S. : Cell-mediated immune response to equine babesiosis. Trop. Anim. Health Prod., 1977, **9**, 153.
5. BASHIRUDDIN J.B., CAMMA C., REBELO E. : Molecular detection of *Babesia equi* and *Babesia caballi* in horse blood by PCR amplification of part of the 16S rRNA gene. Vet Parasitol. 1999, **84** (1-2), 75-83.
6. BÖSE R. : Polyclonal antibody characterization of *Babesia caballi* antigens. International Journal for Parasitology, 1994, **24**, 511-517.
7. BÖSE R., PEYMANN B. - Diagnosis of *Babesia caballi* infections in horses by enzyme-linked immunosorbent assay and Western blot. International Journal for Parasitology, 1994, **24**, 341-346.
8. BÖSE R., DAFMEN K. : Demonstration of the humoral immune response of horses to *Babesia caballi* by Western blotting. International Journal for Parasitology, 1992, **22**, 627-630.
9. BROOKS L., CORDES T., KNOWLES D., STILLER D. : Piroplasmosis of horses : what is known concerning transmission and disease risk ? J. Equine Vet. Sci., 1996, **16** (5), 184-188.
10. BRUNING A., PHIPPS P., POSNETT E., CANNING EU. : Monoclonal antibodies against *Babesia caballi* and *Babesia equi* and their application in serodiagnosis. Vet Parasitol. 1997, **68**(1-2), 11-26.
11. BRUNING A. : Equine piroplasmosis : an update on diagnosis, treatment and prévention. Br. Vet. J., 1996, **152** (2), 139-151.
12. BRYANT J. E. et al. : Control of equine piroplasmosis in Florida. J. Am. Vet. Assoc., 1969, **154**, 1034-1036.
13. CALLOW L.L., MCGREGOR W., RODWELL B.J., ROGERS R.J., FRASER G.C., MAHONEY D.F., ROBERTSON G.M. : Evaluation of an indirect fluorescent antibody test to diagnose *Babesia equi* infection in horses. Aust Vet J. 1979, **55**(12), 555
14. CHURCHILL R.C., BEST D.R. : Babesiosis of a horse in Australia. Aust Vet J. 1976, **52**(10), 487.

15. DE WALL D.T. : Equine piroplasmosis: a review. Br. Vet. J., 1992, **148**, 6-14.
16. DE WALL D.T. : The transovarial transmission of *Babesia caballi* by *Hyalomma truncatum*. Onderstepoort J. Vet. Res., 1990, **57**, 99-100.
17. DE WALL D.T., POTGIETER F.T. : An investigation into the clinical pathological changes and serological responses in horses experimentally infected with *Babesia equi* and *Babesia caballi*. Onderstepoort J. Vet. Res., 1987, **54**, 561-568.
18. DE WALL D.T., POTGIETER F.T. : The transstadial transmission of *Babesia caballi* by *Rhipicephalus evertsi evertsi*. Onderstepoort J. Vet. Res., 1987, **54**, 655-656.
19. DONNELLY J., PHIPPS L.P., WATKINS K.L. : Evidence of maternal antibodies to *Babesia equi* and *Babesia caballi* in foals of séropositives mares. Equine Vet. J., 1982, **14** (2), 126-128.
20. DONNELLY J., JOYNF-R L.P., GRAHAM-JONES O., ELLIS C.P. : A comparison of the complément fixation and immunofluorescent antibody tests in a survey of the prevalence of *Babesia equi* and *Babesia caballi* in horses in the Sultanate of Oman. Trop Anim. Health Prod., 1980, **12**, 50-60.
21. ERBSLOH J.K.E. : Babesiosis in the newborn foal. J. Reprod. Fert., 1975, suppl. 23, 725-726.
22. EUZEBY J. -. Protozoologie Médicale Comparée, Vol III Hémospodioses (suite), Fascicule 2, Lyon Fondation Mérieux 1990, 71-86 et 279-288.
23. EUZEBY J. : Sur la taxonomie des hémospodioses. Cas des piroplasmes. Sci. Vét. Méd. Comp., 1988, **90**, 181-200.
24. FRERICHS W.M., HOLBROOK A.A., JOHNSON A.J. Equine piroplasmosis : Complement fixation titers of horses infected with *Babesia caballi*. Am. J. Vet. Res., 1969, **30**, 697-702.
25. FRIEDHOFF K.T., SOULE C. : Les piroplasmoses équine. Rapport de la commission du code zoosanitaire international, annexe 8. Session générale de l'O.I.E., 1995.
26. FRIEDHOFF K.T. : Transmission of *Babesia*. In : Babesiosis of Domestic animals and Man (Edited by Ristic M), CRC Press, Boca Raton, Florida, 1988, 23-52.
27. GAUTAM O.P., DWIVEDI S.K. : Equine babesiosis: a severe outbreak in a stud farm at Hissar. Indian Vet. J., 1976, **53**, 546-551.
28. HANAFUSA Y., CHO K.O., KANEMARU T., WADA R., SUGIMOTO C., ONUMA M. : Pathogenesis of *Babesia caballi* infection in experimental horses. J Vet Med Sci. 1998, **60**(10), 1127-1132.

29. HEUCHERT C.M., DE GIULLI V. J.R., DE ATHAIDE D.F., BOSE R., FRIEDHOFF K.T. : Seroepidemiologic studies on *Babesia equi* and *Babesia caballi* infections in Brazil. Vet Parasitol. 1999, **85**(1), 1-11.
30. HIKADAI H. et al. : Seroepidemiologic Studies on *Babesia caballi* and *Babesia equi* Infections in Japan, J. Vet. Med. Sci. 2002, **64**(4), 325-328
31. HIRATO K., NINOMIYA M., UWANO Y., KUTH T. : studies of the complément fixation reaction for equine piroplasmosis. Jap. J. Vet. Sci., 1945, **77**, 204-205.
32. HOLBROOK A.A., ANTHONY D.W., JOHNSON A.J. : Observations on the development of *Babesia caballi* in the tropical horse tick *Dermacentor nitens*. J. Protozool., 1968, **15**, 391-396.
33. HOLBROOK A.A., JOHNSON A.J., MADDEN B.S. : Equine piroplasmosis: Intraerythrocytic development of *Babesia caballi* (Nuttall) and *Babesia equi* (Laveran) Am. J. Vet. Res., 1968, **29**, 297-303.
34. IRVIN A.D. : Control of tick-borne diseases. International Journal for Parasitology, 1987, **17** (1) and (2), 649-655.
35. JOYNER L.P., DONNELLY J., HUCK R.A. : Complement fixation test for equine piroplasmosis, Equine Vet. J., 1981, **13**, 103-106.
36. KATSER F., KELLAR S., KIRVAR E., SHIELS B. : Phylogenetic analysis of *Theileria* and *Babesia equi* in relation to the establishment of parasite population within novel host species and the development of diagnostic test. Molecular and Biochemical Parasitology 1998, **95**, 33-44
37. KERBER C.E., FERREIRA F., PEREIRA M.C. : Control of equine piroplasmosis in Brazil. Onderstepoort J Vet Res. 1999, **66**(2), 123-127.
38. KNOWLES D.P. JR. et al. : Specific immune responses are required to control parasitemia in *Babesia equi* infection. Infect. Immun., 1994, **62** (5), 1909-1913.
39. KNOWLES D.P. JR. et al. - A monoclonal antibody defines a geographically conserved surface protein epitope of *Babesia equi* merozoites. Infect. Immun., 1991, **59**, 2412-2417.
40. KNOWLES R.C. : Equine babesiasis : epidemiology, control and chemotherapy. J. Equine Vet. Sci., 1988, **8**(1), 61-64.
41. KUMAR S., MALHOTRA D.V., DHAR S. : Serodiagnosis of *Babesia equi* infections comparison of dot-ELISA, complément fixation test and capillary tube agglutination test. Veterinary Parasitology, 1997, **69**(3-4), 171-176.
42. AM- KUTTLER K.L., GOFF W.L., GIPSON C.A., BLACKBURN B.O. : Serologic response of *Babesia equi*-infected horses as measured by complément fixation and indirect fluorescent antibody tests. Vet. Paras., 1988, **26**, 199-205.

43. KUTTLER K.L., ZAUGG J.L., GIPSON C.A. : Imidocarb and parvaquone in the treatment of piroplasmosis (*Babesia equi*) in equids. Am. J. Vet. Res., 1987, **48**, 1613-1616.
44. LE GALL A. : Point sur les babésioses équine : nouveaux aspects de la symptomatologie et des traitements. Concept-services aux vétérinaires : la lettre confidentielle aux vétérinaires, numéro spécial, 1992.
45. LITTLEJOHN A., WALKER EILEEN M. : Some aspects of the epidemiology of equine babesiosis. J. South Afr. Vet. Ass., 1979, **50** (4), 308-310.
46. MAHONEY D.F., WRIGHT I.G., FRERICHS W.M., GROENENDYK S., O'SULLIVAN B.M., ROBERTS M.C., WADDELL A.H. : The identification of *Babesia equi* in Australia. Aust Vet J. 1977, **53**(10), 461-474.
47. MAHONEY D.F., SAAL J.R. : Bovine babesiosis : Thick blood films for the détection of parasitemia. Aust. Vet. J., 1961, **37**, 44-47.
48. LITTLEJOHN A., WALKER E.M. : Some aspects of the epidemiology of equine babesiosis. J S Afr Vet Assoc. 1979, **50**(4), 308-310.
49. MEHLHORN H., SCHERN E. : The piroplasms : Life cycle and sexual stages. Adv. Parasitol., 1984, **23**, 37-103.
50. NICOLAIEWSKY T.B., RICHTER M.F., LUNGE V.R., CUNHA C.W., DELAGOSTIN O., IKUTA N., FONSECA A.S., DA SILVA S.S., OZAKI L.S. : Detection of *Babesia equi* (Laveran, 1901) by nested polymerase chain reaction. Vet Parasitol. 2001, **101**(1), 9-21.
51. NUTTALL G.H.F., STRICKLAND C. : Die parasiten der Pferdepiroplasmose des bilary lever. Zentralbl. Baakteriol. Mikrobiol. Hyg. B., 1910, **56**, 524.
52. PFEIFER B.,ARBOSA I., BÖSE R., PEYMAN B., FRIEDHOFF K.T. : Epidemiological aspects of equine babesioses in a herd of horses in Brazil. Vet Parasitol. 1995, **58**(1-2), 1-8.
53. POSNETT E.S., FEHRSEN J., DE WAAL D.T., AMBROSIO R.E. : Detection of *Babesia equi* in infected horses and carrier animals using a DNA probe. Vet Parasitol. 1991, **39**(1-2), 19-32.
54. RHALEM A., SAHIBI H., LASRI S., JOHNSON W.C., KAPPMAYER L.S., HAMIDOUCH A., KNOWLES D.P., GOFF W.L. : Validation of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosing *Babesia equi* infections of Moroccan origin and its use in determining the seroprevalence of *B. equi* in Morocco. J Vet Diagn Invest. 2001, **13**(3), 249-251.
55. RIBEIRO M.F., COSTA J.O., GUIMARAES A.M. : Epidemiological aspects of *Babesia equi* in horses in Minas Gerais, Brazil. Vet Res Commun. 1999, **23**(6), 385-90.
56. RISTIC M., OPERMANN J., SIBRNOVIC S., PHILLIPS J.N. : Equine piroplasmosis: a mixed strain of *piroplayma caballi* and *piroplasma equi* isolated in Florida and studied by the fluorescent antibody technique. Am. J. Vet. Res., 1964, **25**, 15-23.

57. RISTIC M., OPERMANN J., SIBRNOVIC S., PHILLIPS J.N. - Equine piroplasmosis : diagnosis by a précipitation in gel and by a one-step fluorescent antibody inhibition test, Am. J. Vet. Res., 1964, **25**, 1519-1526.
58. SAYROU R. : Contribution à l'étude immunologique des babésioses équine : cinétiques d'anticorps chez des poulains au pré. Th. Méd. Vét. : Toulouse : 1984.
59. SCHERN E., RISTIC M. : Equine babesiosis. In : Babesiosis of domestic animals and man (Edited by Ristic M), CRC Press, Boca Raton, Florida, 1988, 197-208.
60. SHKAP V., COHEN I., LEIBOVITZ B., SAVITSKY, PIPANO E., AVNI G., SHOFR S., GIGER U., KAPPMAYER L., KNOWLES D. : Seroprevalence of *Babesia equi* among horses in Israel using competitive inhibition ELISA and IFA assays. Vet Parasitol. 1998, **76**(4), 251-259.
61. SILVEY RE. : Babesiosis in a foal. Vet Rec. 1996, **139**(17), 428.
62. SIMPSON C.F. et al. : Comparative morphologie features of *Babesia caballi* and *Babesia equi*. Am. J. Vet. Res., 1967, **28**, 1693-1697.
63. SINGH B. : Immunization of donkeys against *Babesia equi* infection using killed vaccines. Vet. Parasitol., 1981, **8**, 133-136.
64. SINGH B. : Comparative efficacy of dirninazene and imidocarb against *Theileria equi* infection in donkeys. Vet. Parasitol., 1980, **7**, 173-179.
65. SOULE C. : Les babésioses équine. Point Vét., 1995, **27**(168), 117-123.
66. SOULE C., PERRET C., DORCHIES P. : Les babésioses équine. Bilan des examens sérologiques réalisés en France (1974-1988). Rev. Méd. Vét., 1990, **141**(5), 355-359.
67. SOULE C., PERRET C., DORCHIES P. -. Babésiose équine à *Babesia equi* : comparaison des techniques de fixation du complément, d'immunofluorescence indirecte et d'ELISA. Rev. Méd. Vét., 1984, **135**, 419-424.
68. TAYLOR W.M., BRYANT J.E., ANDERSON J.B., WILLERS K.H. : Equine piroplasmosis in the United States : a review. J Am Vet Med Assoc. 1969, **155**(6), 915-919
69. TENTER A.M., OTTE M.J., GONZALEZ C.A., ABUABARA Y. : Prevalence of piroplasmosis in equines in the Colombian province of Cordoba. Trop Anim Health Prod. 1988, **20**(2), 93-98.
70. TENTER A.M., FRIEDHOFF KT. : Serodiagnosis of expérimental and natural *Babesia equi* and *Babesia caballi* infections. Vet. Parasitol., 1986, **20**, 49-61.
71. WEILAND G, REITER I : Methods for the mesurment of the serological response to *Babesia*. In : Babesiosis of Domestic animals and Man (Edited by Ristic M),CRC Press, Boca Raton, Florida, 1988, 143-162.

72. WEILAND G. : Species-specific serodiagnosis of équine piroplasma infections by means of complément fixation test (CFT), immunofluorescence (IIF), and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Vet. Parasitol., 1986, **20**, 43-48.
73. XUAN X., NAGAI A., BATTSETSEG B., FUKUMOTO S., MAKALA L.H., INOUE N., IGARASHI I., MIKAMI T., FUJISAKI K. :Diagnosis of equine piroplasmosis in Brazil by serodiagnostic methods with recombinant antigens. J Vet Med Sci. 2001, **63**(10), 1159-1160.
74. YIN H., LU W., LUO J. : Babesiosis in China. Trop Anim Health Prod. 1997, **29**(4 Suppl), 11S-15S.
75. YOUNG A. S., PURNELL R.E. : Observations on *Babesia equi* in the salivary glands of *Rhipicephalus evertsi*. Bull. Epiz. Dis. Afr., 1973, **21**, 377-383.
76. ZAPF F., SCHEI-N E. : New findings in the development of *Babesia (Theileria) equi* (Laveran, 1901) in the salivary glands of the vector ticks, *Hyalomma species*. Parasitol. Res., 1994, **80**, 543-548.
77. ZAUGG J.L., LANE V.M. : Efficacy of buparvaquone as a therapeutic and clearing agent of *Babesia equi* of European origin in horses. Am J Vet Res. 1992, **53**(8), 1396-1399.
78. ZAUGG J.L., LANE V.M. : Evaluations of buparvaquone as a treatment for équine babeslosis (*Babesia equi*). Am. J. Vet. Res., 1989, **50** (5), 782-785.

Toulouse, 2002

NOM : Guillot

PRENOM : Julien Alexis

TITRE : Etude de la prévalence et des facteurs de risque de la babésiose sur la population des chevaux en Camargue.

RESUME :

La babésiose équine, maladie provoquée par deux protozoaires parasites des hématies, *Babesia equi* et *Babesia caballi*, est présente sur 90% de la planète. Transmise par une tique vectrice, elle est en général répartie de manière endémique. Dans ce cas de figure, elle se présente majoritairement sous sa forme chronique, dont les symptômes sont frustes. Pourtant, le portage de babesi pose de nombreux problèmes d'ordre économique ou sportif, et même médical en cas de forme aiguë de la maladie.

Dans cette étude, l'auteur s'est intéressé à la prévalence et aux facteurs de risque de la babésiose équine en Camargue. Dans une première partie, il rappelle l'épidémiologie de la maladie. Le protocole d'étude fait l'objet de la seconde. La troisième rapporte la description de la population équine considérée et l'analyse statistique proprement dite. Les résultats obtenus sont commentés dans la dernière partie de l'ouvrage.

La prévalence de la babésiose atteint 22,8% pour *B. caballi* et 67,2% pour *B. equi*. La Camargue est donc une zone de forte endémie. On confirme des éléments épidémiologiques bien connus tels que la vie au pré qui apparaît comme un facteur de risque pour la maladie, ou l'absence de signes cliniques associés à la babésiose dans une zone d'endémie. Si certaines conclusions (comme le caractère « protecteur » de la vermifugation régulière des chevaux) trouvent une explication logique sur le terrain, d'autres, comme le caractère hongre (qui semble prédisposer à une infection à *B. equi*) ou la qualité d'entier (qui semble protéger d'une infection à *B. caballi*) restent à préciser.

MOTS CLES : BABESIOSE ; CHEVAL ; EPIDEMIOLOGIE ; CAMARGUE

ENGLISH TITLE : Study of the prevalence and the factors of risk of equine babesiosis on horses population in Camargue

ABSTRACT :

Equine babesiosis, a disease caused by two parasitic protozoa of red blood cells, *Babesia equi* and *Babesia caballi*, is present on 90% of the planet. Passed on by a tick vector, it is generally distributed in an endemic way. In that case, it appears mainly in its chronic form, which symptoms are mostly unnoticed. However, the chronic carriers rise many problems of sanitary or economic order, and even of medical order in case of acute form of the disease.

In this study, the author has focused on the prevalence and the factors of risk of equine babesiosis in the Camargue. In a first part, he recalls the epidemiology of the disease. The protocol of study constitutes the object of the second. The third reports the description of the considered equine population and the statistical analysis itself. The results obtained are commented on in the last part of the work.

The occurrence of babesiosis reaches 22,8% for *B. caballi* and 67,2% for *B. equi*. The Camargue is thus a strong endemic zone. The author confirms epidemiologic well known elements such as living in the meadow which seems a factor of risk for the disease, and the absence of clinical signs associated to babesiosis in an endemic zone. Some conclusions of the study (as the "protective" character of the regular vermifugation of the horses) find a logical explanation on the ground, whereas other ones, as the gelded character (which seems to predispose to an infection with *B. equi*) or the stallion character (which seems to protect from an infection with *B. caballi*) remain to clarify.

KEY WORDS : BABESIOSIS ; HORSE ; EPIDEMIOLOGY ; CAMARGUE

A notre président de thèse,

Monsieur le Professeur Fonvieille,

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Service zoologie, parasitologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.
Hommage respectueux.

A notre jury de thèse,

Madame le Docteur Boullier

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Service microbiologie et maladies contagieuses

Immunologie.

Qui nous a aidés et guidés avec bonne humeur dans l'élaboration de ce travail.
Qu'il trouve ici la marque de notre reconnaissance et de notre profond respect.

Madame le Docteur Messud-Petit

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Service microbiologie et maladies contagieuses

Epidémiologie, virologie.

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse.
Sincères remerciements.

Remerciements à :

Agnès Leblond, Docteur vétérinaire, Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, qui m'a inspiré ce travail et guidé dans sa réalisation

Marie Aude Heng, Docteur vétérinaire, qui m'a aidé à finaliser le projet et qui a contribué largement à la collecte des données

A Maya et à mon fils qui doit arriver d'un jour à l'autre,
A Pascale et Yves-Loup,
A Laure et Maxime,

A Brigitte et Jean,
A Cédric et Jérôme,
A Isabelle et Xavier